

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

Avaliação Imunomoduladora da Vitamina E em
Éguas Gestantes e Potros Naturalmente Infectados
por *Babesia equi* (Laveran, 1901)

CRISTIANA PORTZ

2003



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**AVALIAÇÃO IMUNOMODULADORA DA VITAMINA E EM ÉGUAS
GESTANTES E POTROS NATURALMENTE INFECTADOS POR
Babesia equi (LAVERAN, 1901)**

CRISTIANA PORTZ

Sob a Orientação do Professor
Fernando Queiroz de Almeida

e Co-orientação do Professor
Carlos Luiz Massard e Maria Angélica Vieira da Costa Pereira

Dissertação submetida como requisito parcial
para a obtenção do grau de **Magister**
Scientiae em Ciências Veterinárias, Área de
Concentração em Sanidade Animal.

Seropédica, RJ
Março de 2003

T
636.10896936
p853a

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

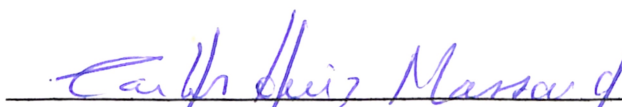
CRISTIANA PORTZ

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Sanidade Animal, como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae**, em Ciências Veterinárias.

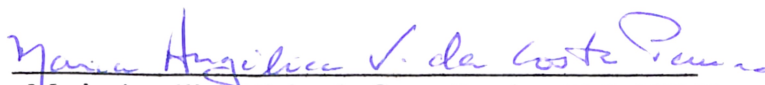
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 18/03/2003



Fernando Queiroz de Almeida. *DSc.* UFRRJ
(Orientador)



Carlos Luiz Massard. *PhD.* UFRRJ



Maria Angélica Vieira da Costa Pereira. *PhD.* UENF

636.10896936

P853

T

Portz, Cristiana, 1977-

Avaliação imunomoduladora da vitamina E em éguas gestantes e potros naturalmente infectados por Babesia equi (Laveran, 1901) / Cristiana Portz. - 2003.

54f. : il., tab.

Orientador: Fernando Queiroz de Almeida.

Dissertação(mestrado)- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária.

Bibliografia: f.36-41.

1. Babesiose em cavalo- Teses. 2. Cavalo- Doenças- Teses. 3. Cavalo- Imunologia- Teses. 4. Sorologia veterinária- Teses. 5. Hematologia veterinária- Teses. 6. Vitamina E- Teses. I. Almeida, Fernando Queiroz de, 1959-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. III. Título.

DEDICATÓRIA

A Deus, pela saúde e acompanhamento em todos os momentos de nossas vidas.

Aos meus pais, Pécio e Nelci, pelo amor e assistência permanente.

Ao meu noivo, Marcos, pela paciência, atenção e confiança.

Aos meus irmãos, Adriano e Leandro, pelo carinho e incentivo sempre oportunos.

Aos animais, que participam da nossa profissão e alegram nossas vidas.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, através do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, por ter me acolhido e possibilitado a realização do curso.

A CAPES, através do Programa de Intercâmbio Acadêmico PROCAD/CAPES-UFRRJ/UENF, pela bolsa de estudos e auxílio financeiro durante o desenvolvimento deste projeto.

A FAPERJ, Fundação de Apoio a Pesquisa de Estado do Rio de Janeiro, através do Programa Cientista em Nosso Estado, pelo auxílio financeiro.

Meus sinceros agradecimentos ao Professor Fernando Queiroz de Almeida pela orientação, incentivo e assistência durante a execução deste trabalho.

Aos professores Carlos Luiz Massard e Maria Angélica Vieira da Costa Pereira pela co-orientação, amizade, confiança e tranquilidade no decorrer desta pesquisa.

Ao professor Cláudio de Moraes Andrade, em especial, pela atenção, dedicação, apoio e amizade durante todo o percurso do trabalho.

A professora Rosângela Zacarias Machado, da Universidade Estadual de São Paulo, Campus Jaboticabal, pelo auxílio na realização do teste sorológico de ELISA.

Ao Laboratório de Vírus Veterinárias da UFRRJ, pela utilização de equipamentos e espaço físico.

A Dra. Vera Baldani, da Embrapa Agrobiologia, pelo apoio e utilização de equipamentos.

Ao professor Paulo de Tarso Landgraff Botteon, pela amizade, apoio e incentivo durante todo o trabalho.

Ao Setor de Equideocultura do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, pela utilização dos animais presentes neste projeto.

A ROCHE[®], pela cessão da Vitamina E administrada nos animais durante o experimento.

As minhas amigas, Rita de Cássia Campbell Botteon, Paula V.E.H. Laranjeira, Fernanda S. Rocco e Arisa M. Pereira pela amizade, companheirismo e apoio sempre oportunos.

Aos colegas, Franklin F. M. Linarez, Jairo D. Barreira, Gil Vicente, Fabiano A. Pires, Kátia R. Fernandes, Ancelmo A. Golynski, Anderson Corassa, Liliâne Patitucci, Tiago M. Santos, Evandro A. Giacomolli, Edson M. Santos, Leandro Galserano, Luis Fernando B. Pinto, Vinícius P. Silva, Daniel Saint Just, pelas demonstrações de companheirismo e assistência nas horas difíceis.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a execução deste trabalho na UFRRJ.

BIOGRAFIA

CRISTIANA PORTZ, filha de Pécio Eugênio Portz e Nelci Maria Portz, nascida em sete de novembro de 1977, na cidade do Rio de Janeiro.

Ingressou na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em 1996, no curso de Medicina Veterinária, estagiando em Clínica Médica no Hospital de Grandes Animais, e Helminologia Veterinária, diplomando-se em abril de 2001.

Foi bolsista de Iniciação Científica na área de Virologia em colaboração com a FIOCRUZ, obtendo financiamento da FAPERJ e do CNPq.

Durante a graduação, participou do II e III Prêmio de Pesquisa Professor Carlos Maria Antônio Hubinger Tokarnia, com trabalhos na área de Virologia, sendo agraciada em ambos, com a colocação de primeiro lugar. Durante este período, publicou trabalhos sobre esta especialidade, em revistas científicas e de congressos.

No ano de 2001, concluiu o Curso de Especialização em Virologia na Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Em Maio de 2001, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ, na área de Concentração em Sanidade Animal.

RESUMO

PORTZ, Cristiana. **Avaliação imunomoduladora da vitamina E em éguas gestantes e potros naturalmente infectados por *Babesia equi* (Laveran, 1901).** Seropedica: UFRRJ, 2003. 54p. (Dissertação, Mestrado em Ciências Veterinárias).

A babesiose equina é uma doença causada pelos protozoários *Babesia equi* e *Babesia caballi* de grande importância para a eqüideocultura, sendo transmitida por carrapatos. Este estudo foi realizado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, utilizando éguas gestantes das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier, e seus respectivos potros, previamente diagnosticados como portadores crônicos da babesiose equina. O objetivo deste trabalho foi avaliar a suplementação com vitamina E nas dietas das éguas gestantes, para avaliação da modulação da resposta imune. Foram utilizados parâmetros hematológicos relacionando-os com a sorologia para *Babesia equi* pela técnica de ELISA indireto e dosagem de IgG no colostro. Os resultados indicaram que não houve resposta imunoestimuladora nas éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier com dietas suplementadas com vitamina E e nos seus respectivos potros. Observaram-se títulos de anticorpos mais altos nos animais jovens do que nos adultos, que caracteriza a forma crônica da doença. Alguns potros apresentaram esfregaços sanguíneos positivos para *Babesia equi* no primeiro dia de vida. Houve predominância de leucocitose e linfocitose, sem diminuição do VGM nos potros nascidos de éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E. A reagudização da doença foi observada em uma égua da raça Bretão Postier no período pré-parto. Os resultados confirmam que os eqüinos da UFRRJ são portadores crônicos para a babesiose equina.

Palavras chaves: babesiose, eqüinos, imunomodulação, vitamina E

ABSTRACT

PORTZ, Cristiana. **Immunomodulate avaliation of vitamin E on pregnant mares and foals naturally infected by *Babesia equi* (Laveran, 1901).** Seropédica: UFRRJ, 2003. 54p. (Dissertation, Master of Science in Veterinary Science).

Equine babesiosis is a disease caused by haemoprotozoan parasites, *Babesia equi* and *Babesia caballi*, transmitted by ticks with great importance for horse business. This study was conducted at Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro with pregnant mares and foals of Mangalarga Marchador and Bretão Postier breeds. These animals were chronic carriers of equine babesiosis. This study aims to evaluate immunomodulation of vitamin E in mares with supplemented diets. Haematological values and IgG colostrum concentration were associated with ELISA sera results for *Babesia equi*. Immunomodulation wasn't observed in mares and foals and high titers were observed in foals than mares, characterized chronic babesiosis. Some foals presented positive blood smears for *Babesia equi* at its first day of life. Leucograms values from foals of Mangalarga Marchador and Bretão Postier mares with supplemented diets demonstrated increase in relative and absolute values of linfocytes. Disease reagudization was observed in a Bretão Postier pregnant mare. Thus results confirm that horses from UFRRJ herd were chronic carriers of equine babesiosis.

Key words: babesiosis, horses, immunomodulation, vitamin E

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Babesiose Equina	3
2.1.1. Etiologia	3
2.1.2. Distribuição	4
2.1.3. Importância	5
2.1.4. Enfermidade	6
2.1.5. Diagnóstico	7
2.2. Imunidade em Equinos	8
2.3. Imunomodulação	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1. Localização do Experimento	11
3.2. Tratamentos	11
3.3. Colheita de Amostras	12
3.4. Procedimentos para Obtenção de Antígeno para o Teste de ELISA	13
3.5. Técnica de ELISA Indireto para Detecção de Anticorpos de <i>Babesia equi</i>	13
3.6. Delineamento Experimental e Análises Estatísticas	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1. Identificação de Carrapatos Colhidos Durante o Experimento	16
4.2. Estimativa da Concentração do IgG do Colostro	16
4.3. Detecção de Anticorpos para <i>Babesia equi</i> nas Éguas pelo Teste de ELISA Indireto	17
4.4. Detecção de Anticorpos para <i>Babesia equi</i> nos Potros pelo Teste de ELISA Indireto	19
4.5. Avaliação do Hemoparasitismo em Esfregaços Sanguíneos em Comparação com a Sorologia pelo ELISA Indireto das Éguas e Potros	22
4.6. Avaliação dos Parâmetros Hematológicos das Éguas	23
4.7. Avaliação dos Parâmetros Hematológicos dos Potros	29
4.8. Ocorrência Clínica da <i>Babesia equi</i> em Éguas da Raça Bretão Postier	33
5. CONCLUSÕES	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
7. ANEXOS	42

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição química da ração concentrada e do volumoso, expresso na base da matéria seca (MS).....	11
Tabela 2. Valores médios do peso vivo, das quantidades de ração concentrada, do volumoso e da vitamina E presente nos componentes da dieta (concentrado e volumoso), das éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E e das éguas da raça Mangalarga Marchador (MM) do grupo controle	12
Tabela 3. Valores médios das concentrações de IgG e proteína total (PT) no colostro das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentados com dietas suplementadas com vitamina E.....	16
Tabela 4. Índices médios de CELISA dos potros das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier.....	19
Tabela 5. Comparação da eficiência do diagnóstico de <i>B. equi</i> através do esfregaço sangüíneo e do teste de ELISA indireto em éguas	22
Tabela 6. Comparação da eficiência do diagnóstico de <i>B. equi</i> através do esfregaço sangüíneo e do teste de ELISA indireto em potros	22
Tabela 7. Valores médios da hematologia de éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.....	23
Tabela 8. Médias e equações de regressão (ER) do volume globular médio (VGM) e proteína plasmática total (PT) em função das semanas experimentais em éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.....	24
Tabela 9. Valores médios do leucograma em éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.....	27
Tabela 10. Médias e equações de regressão (ER) do leucograma em função da interação entre semanas experimentais e tratamentos em éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.....	28
Tabela 11. Médias e equações de regressão (ER) da hematologia em função das semanas de idade dos potros das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP).....	29
Tabela 12. Valores médios do volume globular médio (VGM) em potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.....	30

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição química da ração concentrada e do volumoso, expresso na base da matéria seca (MS).....	11
Tabela 2. Valores médios do peso vivo, das quantidades de ração concentrada, do volumoso e da vitamina E presente nos componentes da dieta (concentrado e volumoso), das éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E e das éguas da raça Mangalarga Marchador (MM) do grupo controle	12
Tabela 3. Valores médios das concentrações de IgG e proteína total (PT) no colostro das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentados com dietas suplementadas com vitamina E.....	16
Tabela 4. Índices médios de CELISA dos potros das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier.....	19
Tabela 5. Comparação da eficiência do diagnóstico de <i>B. equi</i> através do esfregaço sangüíneo e do teste de ELISA indireto em éguas	22
Tabela 6. Comparação da eficiência do diagnóstico de <i>B. equi</i> através do esfregaço sangüíneo e do teste de ELISA indireto em potros	22
Tabela 7. Valores médios da hematologia de éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.....	23
Tabela 8. Médias e equações de regressão (ER) do volume globular médio (VGM) e proteína plasmática total (PT) em função das semanas experimentais em éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.....	24
Tabela 9. Valores médios do leucograma em éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.....	27
Tabela 10. Médias e equações de regressão (ER) do leucograma em função da interação entre semanas experimentais e tratamentos em éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.....	28
Tabela 11. Médias e equações de regressão (ER) da hematologia em função das semanas de idade dos potros das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP).....	29
Tabela 12. Valores médios do volume globular médio (VGM) em potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.....	30

Tabela 13. Valores médios da concentração de hemoglobina globular média (CHGM) em função da interação da suplementação de vitamina E nas dietas das éguas com a idade dos potros das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP).....	31
Tabela 14. Valores médios de leucócitos, linfócitos, eosinófilos e basófilos em potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.....	32
Tabela 15. Médias e equações de regressão (ER) da leucometria em função da idade dos potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.....	32
Tabela 16. Avaliação do hematócrito (HT), hemoglobina (HB), monócitos (MON), índice de ELISA (IE) e esfregaço sangüíneo de uma égua Bretão Postier...	33
Tabela 17. Nome do animal, tratamento, peso vivo, quantidades consumidas de ração concentrada, de volumoso e de Vitamina E.....	42
Tabela 18. Análise de variância da hematimetria das éguas.....	43
Tabela 19. Análise de variância do hematócrito das éguas.....	43
Tabela 20. Análise de variância da hemoglobina das éguas.....	43
Tabela 21. Análise de variância do VGM das éguas.....	44
Tabela 22. Análise de variância do CHGM das éguas.....	44
Tabela 23. Análise de variância da proteína total das éguas.....	44
Tabela 24. Análise de variância do fibrinogênio das éguas.....	45
Tabela 25. Análise de variância da leucometria das éguas.....	45
Tabela 26. Análise de variância dos linfócitos das éguas.....	45
Tabela 27. Análise de variância dos neutrófilos das éguas.....	46
Tabela 28. Análise de variância dos monócitos das éguas.....	46
Tabela 29. Análise de variância dos eosinófilos das éguas.....	46
Tabela 30. Análise de variância dos basófilos das éguas.....	47
Tabela 31. Análise de variância da hematimetria dos potros.....	47
Tabela 32. Análise de variância do hematócrito dos potros.....	47
Tabela 33. Análise de variância da hemoglobina dos potros.....	48

	Página
Tabela 34. Análise de variância do VGM dos potros	48
Tabela 35. Análise de variância do CHGM dos potros.....	48
Tabela 36. Análise de variância da proteína total dos potros.....	49
Tabela 37. Análise de variância do fibrinogênio dos potros.....	49
Tabela 38. Análise de variância da leucometria dos potros.....	49
Tabela 39. Análise de variância dos linfócitos dos potros.....	50
Tabela 40. Análise de variância dos neutrófilos dos potros.....	50
Tabela 41. Análise de variância dos monócitos dos potros.....	50
Tabela 42. Análise de variância dos eosinófilos dos potros.....	51
Tabela 43. Análise de variância dos basófilos dos potros.....	51
Tabela 44. Análise do ELISA das éguas.....	51
Tabela 45. Análise do ELISA dos potros.....	52
Tabela 46. Análise de variância da proteína colostrar.....	52
Tabela 47. Análise de variância do IgG estimado do colostro.....	52
Tabela 48. Análise de regressão do VGM das éguas.....	53
Tabela 49. Análise de regressão da PT das éguas.....	53
Tabela 50. Análise de regressão do LIN das éguas.....	53
Tabela 51. Análise de regressão da HEM dos potros.....	53
Tabela 52. Análise de regressão do HT dos potros.....	53
Tabela 53. Análise de regressão da HB dos potros.....	53
Tabela 54. Análise de regressão da PT dos potros.....	54
Tabela 55. Análise de regressão do FIB dos potros.....	54
Tabela 56. Análise de regressão do LEU dos potros.....	54
Tabela 57. Análise de regressão da LIN dos potros.....	54
Tabela 58. Análise de regressão do NEU dos potros.....	54
Tabela 59. Análise de regressão do MON dos potros.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Valores médios do IgG colostrar das éguas em função do tempo de colheita em horas pós-parto.....	17
Figura 2. Valores médios do CELISA das éguas das raças Mangalarga Marchador controle e Mangalarga Marchador e Bretão Postier com dietas suplementadas com vitamina E.....	18
Figura 3. Índices médios do CELISA em função da idade dos potros, expressas em semanas, das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier.....	19
Figura 4. Índices de ELISA individuais dos potros da raça Mangalarga Marchador do grupo controle cujas éguas foram alimentadas com dietas não suplementadas com vitamina E.....	20
Figura 5. Índices de ELISA individuais dos potros da raça Mangalarga Marchador cujas éguas foram alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.....	20
Figura 6. Índices de ELISA individuais dos potros da raça Bretão Postier cujas éguas foram alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.....	21
Figura 7. Estimativas dos valores médios do VGM das éguas em função do período experimental.....	25
Figura 8. Estimativas dos valores médios do PT das éguas em função do período experimental.....	26
Figura 9. Estimativas dos valores médios do hematócrito em função da idade dos potros, expressa em semanas.....	30

1. INTRODUÇÃO

A babesiose eqüina, também conhecida como piroplasmose ou nutaliose eqüina, trata-se de uma doença produzida por protozoários *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1912) e *Babesia equi* (Laveran, 1901), transmitida por carrapatos dos gêneros, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Hyalomma* *Amblyomma*, *Anocentor* e *Boophilus* afetando eqüinos, asininos, camelos e zebras. Os animais infectados tornam-se geralmente portadores crônicos e fontes de infecção por longos períodos. A presença e a multiplicação dos agentes no interior das hemácias pode levar a anemia hemolítica progressiva, manifestando-se sob a forma clínica aguda, com quadro clínico característico como febre, anemia, hemoglobínúria, edema, podendo evoluir para o óbito; ou crônica, na qual é percebida apenas a queda de rendimento do animal. Na fase crônica, os animais apresentam parasitemias muito baixas, difíceis de serem detectadas nos esfregaços sanguíneos. Nesse caso, o diagnóstico é feito através de técnicas sorológicas como Imunofluorescência Indireta (IFI), Teste de Fixação de Complemento (TFC) e *Enzyme-Linked Immunosorbent Assays* (ELISA).

A adoção de medidas de prevenção ou erradicação desta infecção em eqüinos, tem sido um grande desafio para criadores e veterinários em várias regiões do mundo. A América do Sul e Central são consideradas altamente endêmicas mantendo um rígido controle sanitário de fronteira, impedindo a entrada de animais soropositivos ao TFC para as babesioses eqüinas. Alguns países considerados livres da babesiose eqüina, em muitos casos, não estão livres dos carrapatos vetores, portanto a entrada de um animal positivo crônico, pode acarretar infecção aguda. O maior impacto econômico se reflete na morbidade, diminuição do potencial atlético, gastos com medicamentos, abortos e mortalidade, além da possível introdução de animais susceptíveis em área enzoótica.

Estima-se que 90% dos cavalos existentes no mundo sejam criados em áreas endêmicas para a babesiose eqüina, numa população mundial estimada em 120 milhões de cabeças. A prevalência da babesiose eqüina tem sido levantada em vários países, onde os resultados variam enormemente de acordo com os fatores epidemiológicos regionais. No Brasil, são vastos os estudos em babesiose bovina, porém em babesiose eqüina poucos trabalhos têm sido realizados, sendo que, a exportação de cavalos seria um grande impulso para a equideocultura brasileira, se fossem tomadas as medidas profiláticas necessárias para o livre trânsito e comércio de eqüinos.

O plantel eqüino da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro apresenta-se endêmico para as duas espécies causadoras de babesiose devido a constante reinfecção através dos carrapatos vetores. Há transporte passivo de anticorpos, via colostro, para os potros e uma certa estabilidade enzoótica. A inexistência de uma vacina efetiva, a difícil eliminação do vetor na natureza, a existência da infecção crônica em áreas endêmicas e o risco de reagudização dos animais portadores crônicos tornam importante avaliar o uso de imunomoduladores com o objetivo de aumentar a resposta imune dos animais infectados.

A vitamina E (α -tocoferol) age como protetor de membrana celular, antioxidante biológico, evita danos em fibras musculares cardíacas e esqueléticas, tendo atividade na coagulação sanguínea, transporte de elétrons, proteção do organismo contra metais pesados, possuindo ainda mecanismo modulador da resposta imune dos animais, protegendo os leucócitos e macrófagos durante a fagocitose. A suplementação de éguas gestantes com

vitamina E, pode resultar em aumento da concentração de IgG sérico e transporte passivo aos potros.

Devido aos novos conhecimentos em nutrição eqüina e a pouca informação sobre o uso de imunomoduladores, este trabalho objetivou o estudo da suplementação dietética com vitamina E, de éguas gestantes portadoras de babesiose avaliando anticorpos específicos para *Babesia equi* nos soros sanguíneos das éguas e seus respectivos potros, assim como a dosagem de IgG total no colostro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Babesiose Equina

2.1.1. Etiologia

A primeira descrição de hemoparasitas no sangue de bovinos foi constatada por BABES (1888), na Romênia, região do delta do rio Danúbio descrevendo o gênero *Haematococcus*. SMITH & KILBOURNE (1893), no sul dos Estados Unidos, mostraram que tais agentes eram responsáveis pela “Febre do Texas”, enfermidade que ocorria em bovinos quando descreveram o gênero *Pyrosoma*. Igualmente importante, foi a descoberta de que a transmissão biológica por ‘piroplasmas’, estava vinculada aos carrapatos, como o *Boophilus annulatus*. O envolvimento de um artrópode na transmissão de doenças introduziu um novo conceito de epidemiologia, abrindo caminho para o controle de muitas enfermidades do homem e dos animais.

A nomenclatura dada por BABES como *Haematococcus* e por SMITH & KILBOURNE (1893) *Pyrosoma*, hoje são inválidas e um único gênero é reconhecido sendo denominado *Babesia* (STARCOVICI, 1893). No Brasil, Fajardo em 1901, observou pela primeira vez piroplasmas em bovinos, citado por FONSECA & BRAGA (1924), na publicação técnica “Noções sobre a Tristeza Parasitária Bovina”.

Por volta de 1930, algumas espécies de *Babesia* já eram conhecidas como parasitas de animais domésticos em quase todo o mundo, sendo os carrapatos seus únicos vetores. LEVINE (1971), listou diferentes espécies de *Babesia* em vários animais domésticos, inclusive *Babesia caballi* e *Babesia equi* em eqüinos. CARINI (1910), assinalou a ocorrência no Brasil, da existência de piroplasmose eqüina, baseado em manifestações clínicas e exame microscópico de sangue. Na América do Sul, a *Babesia caballi*, foi reportada pela primeira vez, por COSTA & MELLO (1963) no Brasil, em um eqüino adulto, com oito anos de idade procedente do município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro.

Os agentes etiológicos da *Babesia caballi* e *Babesia equi* pertencem à família *Babesiidae*. A *Babesia caballi* é uma espécie considerada como “grande” *Babesia* e que apresenta forma arredondada, ovalada ou piriforme, estando quase sempre unidas por uma das extremidades. Os trofozoítas estão freqüentemente agrupados em dois e suas dimensões variam de 2 a 5µm de comprimento e de 1,3 a 3µm de diâmetro (LEVINE, 1971).

A *Babesia equi* é uma espécie considerada “pequena”, que apresenta forma arredondada, tendo dimensão de 2 a 3µm de diâmetro, caracterizando-se por apresentar forma tetraédrica, disposta em cruz, denominada “Cruz de Malta”.

Na *Babesia equi*, os esporozoítas são transmitidos pelos carrapatos vetores, invadindo os linfócitos, nos quais formarão macroesquizontes e microesquizontes. Estes últimos liberarão numerosos merozoítas que após desintegrarem, invadem os eritócitos onde ocorre sua propagação (SOULÉ, 1995). Um número de quatorze espécies de ixodídeos de três gêneros: *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Hyalomma* têm sido identificados como vetores tanto de *Babesia equi* quanto de *Babesia caballi*. Na Europa, a *Babesia caballi* é transmitida por cinco espécies do gênero *Dermacentor* e pelo *Hyalomma*

marginatum, enquanto a *Babesia equi* tem como vetores o *Dermacentor* spp., *Hyalomma* spp. e o *Rhipicephalus* spp. (NEITZ, 1956).

A *Babesia equi* é transmitida apenas transestadialmente por nove espécies de carrapatos, enquanto que a *Babesia caballi* é transmitida tanto transestadialmente, por quatro espécies de carrapatos, quanto transovariamente, por nove espécies de carrapatos (NEITZ, 1956; DE WAAL & POTGIETER, 1987; DE WAAL, 1992). Segundo RIBEIRO *et al.* (1995), o principal vetor da *Babesia caballi* no Brasil é o carrapato *Anocentor nitens*. Atualmente, não se conhece o vetor da *Babesia equi*, ainda que esta espécie infecte a maior parte dos cavalos da América Latina (SOULÉ, 1995). LABRUNA *et al.* (2001), avaliando os fatores de risco para infestações de carrapatos e sua ocorrência em eqüinos no Estado de São Paulo relataram que as três espécies encontradas sobre os eqüinos durante o período experimental foram *Anocentor nitens*, *Amblyomma cajennense* e *Boophilus microplus*, em 95, 50 e 10%, respectivamente.

Em estudos experimentais recentes, o *Boophilus microplus* vem sendo responsabilizado como vetor (CUNHA *et al.*, 1996), assim como os carrapatos *Anocentor nitens* e o *Amblyomma cajennense* (FORTES, 1997).

KERBER *et al.* (1999), demonstraram que a *Babesia equi* é capaz de desenvolver seu ciclo no *Boophilus microplus* com transmissão transestadial e, embora o *Boophilus microplus* infeste principalmente bovinos, também pode ser encontrado nos eqüinos criados juntamente com bovinos (STILLER & COAN, 1995).

2.1.2. Distribuição

A distribuição mundial da babesiose eqüina coincide com a distribuição dos carrapatos vetores comuns a ambas espécies, embora a *Babesia equi* pareça ter maior distribuição do que a *Babesia caballi* (LEVINE, 1971). A *Babesia equi* e a *Babesia caballi* ocorrem em Portugal, Espanha, França, Bélgica, Itália, grande parte da Rússia, assim como no continente Africano, América Central e do Sul (FRIEDHOFF, 1982). A Austrália é considerada área livre da doença, entretanto a *Babesia equi* foi levada àquele país através de importação de cavalos espanhóis, mas em uma área que não continha carrapatos vetores (MAHONEY *et al.*, 1967). Ambas espécies foram introduzidas nos EUA, em 1958 quando cavalos provenientes de Porto Rico foram importados, porém restritos em quarentena (DE WAAL, 1992).

PFEIFER BARBOSA *et al.* (1995), relataram prevalência de 100% de soropositivos para *Babesia equi* e 65,5% para *Babesia caballi* em potros do Estado do Rio de Janeiro. Segundo HEUCHERT *et al.* (1999), a titulação de anticorpos nos potros persiste de 1 a 5 meses para *Babesia equi* e de 1 a 4 meses para *Babesia caballi*. Segundo RIBEIRO & LIMA (1989), ambas as espécies de *Babesia* são endêmicas no Brasil, devido à alta infestação de carrapatos nos cavalos, chegando em algumas regiões a 100%.

Estudos epidemiológicos realizados por TENTER & FRIEDHOFF (1986) utilizando soros sanguíneos de eqüinos provenientes dos Estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo, demonstraram que 16 e 18 animais estavam positivos para *Babesia caballi* e *Babesia equi*, respectivamente. RIBEIRO & LIMA (1989), relataram a frequência de 80,1% para *Babesia equi* em 306 soros do Estado de Minas Gerais. No Brasil, vários autores encontraram anticorpos específicos para *Babesia equi* e *Babesia caballi* em animais reagentes a IFI e ao TFC especialmente, na região Sul (KERBER *et al.* 1999), na região

Sudeste PFEIFER BARBOSA *et al.* (1992, 1995); BITTENCOURT *et al.* (1997); HEUCHERT *et al.* (1999); COSTA PEREIRA (1999); BOTTEON (2003); e na região do Centro-Oeste LINHARES, (1994).

Estas regiões congregam os maiores centros de criação de eqüídeos atletas, com destaque para os Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro. Em todas elas, os carrapatos *Anocentor nitens*, *Amblyomma cajennense* e *Boophilus microplus*, ocorrem parasitando principalmente eqüinos e bovinos. No Brasil, a babesiose eqüina é considerada relativamente freqüente, sendo a maioria dos casos, quase sempre causada por *Babesia equi* (LINHARES, 1994; PFEIFER BARBOSA *et al.*, 1995; BITTENCOURT *et al.*, 1997). A *Babesia caballi* parece ser, segundo estes autores, uma espécie de baixa parasitemia e prevalência tão alta quanto para *Babesia equi* no continente americano, principalmente, na América do Sul, sendo freqüente nos continentes Europeu e Asiático.

Países como Estados Unidos, Canadá, Japão e Austrália não permitem a entrada de animais positivos para babesiose, conforme as normas do *United States Department of Agriculture* (USDA), internacionalmente reconhecidas. Esses países estão livres do agente etiológico, mas não dos agentes transmissores, portanto, animais positivos poderão levar a doença para animais sem imunidade específica resultando em infecção aguda e até morte dos animais (KNOWLES, 1996a).

Segundo KNOWLES (1996a), a babesiose eqüina é considerada no mundo inteiro, como principal impedimento para trânsito internacional de cavalos. Somente 10% da população mundial de eqüinos habita áreas livres da doença e entre estes países estão o Japão, Canadá, EUA e Austrália, que possuem uma indústria eqüina desenvolvida. Assim, cavalos procedentes de áreas endêmicas são impedidos de entrar em áreas endêmicas, seja para competições temporárias ou por aquisição definitiva. No Brasil, a exportação de cavalos seria um importante impulso para a eqüideocultura, entretanto as barreiras sanitárias e a ocorrência de babesiose eqüina constituem um grande entrave para a aceitação desse produto no exterior.

2.1.3. Importância

A população mundial de cavalos é estimada em 120 milhões de cabeças, sendo que 90% dos animais são criados em áreas endêmicas para babesiose (SCHEIN, 1988). No nosso país, em 1996, o IBGE estimou cerca de 7.179.672 cabeças de eqüinos, asininos e muares.

Segundo PFEIFER BARBOSA *et al.* (1995), verificaram elevada prevalência de babesiose eqüina, no Setor de Eqüinocultura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), observando que a soropositividade ao TFC em 60 eqüinos, era de 96,7% para *Babesia equi* e 61,7% para *Babesia caballi*. CUNHA *et al.* (1996), avaliando criações de eqüinos PSI, no Rio Grande do Sul, verificaram a freqüência de 57,9% de animais soropositivos para *Babesia equi* utilizando o teste de IFI, sugerindo que os criatórios estudados são endêmicos à *Babesia equi*, citado por COSTA PEREIRA (1999).

O maior prejuízo que a doença acarreta em áreas endêmicas é a diminuição do desempenho em animais de esporte, pois animais portadores crônicos, têm um nível de desempenho inferior aos animais negativos (KERBER, 2001). A diminuição do potencial atlético se baseia no fato de que os portadores crônicos apresentam vários graus de anemia, podendo haver reagudizações periódicas, levando os animais a fracassos inesperados. Além

disso, devem ser considerados os prejuízos decorrentes de gastos com tratamentos, abortos, deficiência renal, cólicas, enterites e mortes devido a infecções agudas ou congênitas (DE WAAL, 1992). Os casos agudos não são muito comuns em áreas endêmicas, mas podem ser observadas reagudizações de quadros crônicos em situações de estresse decorrentes de treinamento, doenças intercorrentes, viagens e competições.

Os fatores responsáveis pela transmissão intrauterina não estão bem definidos, mas um deles é que, lesões nos vasos sanguíneos poderiam facilitar a transmissão de *Babesia* spp. intrauterina (NEITZ, 1956; DE WAAL, 1992). A transmissão intrauterina da *Babesia equi* e da *Babesia caballi* podem ocorrer, sendo que abortos são mais frequentes em infecções por *Babesia equi*. O neonato geralmente apresenta eritrócitos parasitados, anemia e icterícia (NEITZ, 1956). O neonato pode ainda nascer de égua infectada e não ser portador do agente, e após a amamentação recebe anticorpos passivos (DONNELLY *et al.*, 1982).

2.1.4. Enfermidade

A infecção por *Babesia* spp. em eqüinos ocorre de três formas clínicas bem características: a hiperaguda, a aguda e a crônica. A babesiose hiperaguda e a aguda tornam-se de baixa incidência em regiões endêmicas, devido ao fato do animal apresentar imunidade passiva e ativa (HAILAT *et al.*, 1997). Nestes quadros clínicos, a hemoglobina liberada pela hemólise, converte-se em pigmento biliar e, o excedente é depositado nos tecidos moles, como mucosa e subcutâneo, resultando em icterícia. O excesso de hemoglobina é eliminado pela urina ocasionando hemoglobinúria. O óbito de animais deve-se a destruição de eritrócitos e obstrução dos capilares dos órgãos viscerais pelas hemácias parasitadas, parasitos e detritos celulares. A associação destes fatores produz metabólitos tóxicos e anoxia, cujos efeitos são letais. Na necrópsia, observa-se subcutâneo icterico, emaciação e edema, acúmulo de fluídos nas cavidades fechadas, em especial no saco pericárdico e cavidade peritoneal, esplenomegalia, hepatomegalia, estômago e intestinos hemorrágicos. Na fase crônica, o animal se torna portador assintomático (KNOWLES, 1996b).

O estado portador é definido pela presença dos parasitos nos órgãos linfóides, como o baço e os animais apresentam baixa taxa de anticorpos específicos, enquanto os parasitos apresentam-se em latência. Durante o estado latente, ocorre um equilíbrio entre a resposta imunológica do animal e o parasita. Em situações de estresse ou terapêutica que tenha efeito imunodepressor, os parasitos se multiplicam, retornando à fase aguda, com os animais apresentando os sintomas clínicos característicos (SOULÉ, 1995). O período de incubação de infecção natural varia de 12 a 19 dias, em infecções por *Babesia equi*, e de 10 a 30 dias em infecções por *Babesia caballi* (DE WAAL, 1990).

Durante a infecção, os merozoítos conseguem penetrar na célula hospedeira. Eles multiplicam-se, assexuadamente, e por consequência produzem alterações morfológicas nos eritrócitos do hospedeiro. As hemácias, as plaquetas e a concentração de hemoglobina estão reduzidas em todas as infecções (DE WALL & POTGIETER, 1987). Segundo RUDOLPH *et al.* (1975), após casos agudos de infecção por *Babesia equi*, o leucograma apresenta monocitose e eosinopenia e os valores da proteína plasmática total não são alterados. Uma relação inversa entre o hematócrito e o título de anticorpos durante a fase aguda foi

observada por (CUNHA *et al.*, 1998), entretanto, não houve alterações significativas durante a fase crônica.

2.1.5. Diagnóstico

Para detecção da babesiose, por ocasião de importações e exportações de cavalos e movimentação eqüestre realizados no país e no exterior, várias técnicas sorológicas são utilizadas como TFC IFI, e ELISA, segundo a Organização Internacional de Epizootias (OIE, 2001). A técnica do esfregaço sanguíneo corado possui reduzida sensibilidade na detecção dos parasitos nas baixas parasitemias e depende da habilidade do examinador na identificação das diversas formas evolutivas do parasito (CUNHA *et al.*, 1998). PORTZ *et al.* (2002), avaliando esfregaços sanguíneos obtidos de diferentes pontos de colheita, orelha, cauda e veia jugular em seis éguas portadoras crônicas de babesiose eqüina, antes e após exercício; observaram que nos animais em repouso, não houveram diferenças entre os locais de colheita; e que após o exercício, o número de eritrócitos parasitados foi maior nos esfregaços sanguíneos de veia jugular, o que pode ser justificado pela contração esplênica.

O uso extensivo de vários ensaios sorológicos tem revelado que a sensibilidade e/ou especificidade de cada teste depende, entre outros fatores, do preparo do antígeno utilizado. A fonte primária de antígeno de *Babesia sp.* para muitos destes testes sorológicos é o sangue total de animais infectados, colhido no pico da parasitemia. É de fundamental importância que a amostra usada na infecção experimental seja semelhante tanto quanto possível à amostra natural isolada. Por outro lado, é necessário para isolamento de antígeno de *Babesia spp.*, altas parasitemias e que são obtidas somente em animais esplenectomizados, imunodeprimidos por drogas ou com passagens seriadas em animais esplenectomizados (MAHONEY, 1977). Um aumento do número de passagens em animais esplenectomizados pode reduzir a especificidade de antígenos (CURNOW, 1973).

Atualmente, utiliza-se a Reação Polimerásica em Cadeia (PCR), porém, nos casos crônicos podem ocorrer falsos-negativos, devido a pouca quantidade de DNA (KERBER, 2001). BASHIRUDDIN *et al.* (1999) através do teste de amplificação de parte do gene 16S rRNA por PCR detectou a presença de *Babesia caballi* e *Babesia equi* no sangue de eqüinos europeus e revelou que uma parasitemia de aproximadamente 0,000083% foi detectada pela técnica de PCR para *Babesia equi* comparada com limites de 0,001% reportado pelo exame do esfregaço sanguíneo corado.

A Organização Internacional de Epizootias (OIE, 2001) recomenda como métodos padrões de diagnóstico para babesiose os testes sorológicos de TFC, IFI e ELISA. Apesar de existirem vários testes para detecção de anticorpos contra *Babesia spp.*, somente o TFC, a IFI e o ELISA têm sido utilizados rotineiramente para *Babesia equi* (BÖSE *et al.*, 1995). O TFC pode apresentar desvantagens incluindo resultados falsos-negativos e pouca sensibilidade para detecção de infecção latente (BRÜNING, 1996). Uma razão primária para que ocorram resultados falsos-negativos no TFC seria a presença da imunoglobulina da classe do IgG(T), que não fixa complemento, e é encontrada com facilidade em soro eqüino (Mc GUIRE *et al.*, 1971). A IFI mostrou ser uma técnica sorológica importante, mas dependente da habilidade do examinador e do período de *shelf life* das lâminas, que é aproximadamente de um ano.

O ELISA tem demonstrado ser a técnica mais sensível e eficiente possibilitando a análise de um grande número de amostras, entretanto revela várias reações cruzadas entre

Babesia caballi e *Babesia equi* (PFEIFER BARBOSA *et al.*, 1995; SHKAP *et al.*, 1998). O ELISA é um teste mais sensível do que a IFI e o TFC, sendo utilizada na detecção de anticorpos anti-*Babesia sp* em animais recém-infectados ou em estágio de doença crônica (MACHADO, 1991). A sensibilidade do ELISA decorre da preparação do antígeno com 100% de eritrócitos parasitados por *Babesia equi* e pela escolha da microplaca (BÖSE & PEYMAN, 1994). A formação de imuno-complexos ligados à membrana do eritrócito parasitado por *Babesia spp* pode causar reações falso-positivas ou reações duvidosas no ELISA (MACHADO, 1991).

Segundo BOTTEON (2003), a precisão da IFI e do ELISA indireto para *Babesia equi* foi de 96,15% para ambos os testes. A sensibilidade do ELISA foi de 98,3% e da IFI de 96,6% concordando com os trabalhos de (BÖSE & PEYMANN, 1994). Outra técnica, a de *Western Blotting* tem sido utilizada como confirmatória do ELISA, não apresentando reações cruzadas entre *Babesia equi* e *Babesia caballi* (PFEIFER BARBOSA *et al.*, 1995).

2.2. Imunidade em Equinos

O estudo da imunidade à infecção por babesiose torna-se importante para a elucidação dos mecanismos de resposta humoral. A sorologia tem se mostrado insubstituível devido às dificuldades na detecção dos parasitas em esfregaços de sangue de animais cronicamente infectados, além de ser um instrumento para verificação do grau de imunidade estabelecida após infecção natural (MACHADO, 1991).

Nos ungulados, a transferência da imunidade passiva se dá no período pós-natal, ou seja, a placenta do tipo epiteliocorial presente nos eqüinos, impede a passagem de anticorpos da circulação materna para a fetal, fazendo com que suas progênies nasçam com ausência ou níveis insignificantes de anticorpos. A IgG e IgG(T) são as principais imunoglobulinas presentes no colostro dos animais sendo mobilizadas do sangue materno para a glândula mamária (JEFFCOTT, 1972).

ROUSE & INGRAM (1970), analisando amostras de colostro de éguas pôneis obtidas antes da primeira mamada, observaram que a proteína total do colostro era duas vezes maior que a proteína total (PT) do soro das éguas. Nesse mesmo estudo, os autores verificaram que a concentração de IgG variava de 31 a 60mg/ml, o que correspondia de 21,9 a 43,5% da proteína total do colostro, demonstrando que ocorre redução acentuada de PT e IgG no colostro com o passar do tempo após o parto: de zero a três horas, 40% da PT e IgG no colostro com o passar do tempo após o parto apenas 8,8% da PT corresponde a IgG e no quinto corresponde a IgG; 24 horas após o parto apenas 2,13% da PT corresponde à IgG. Durante as três primeiras horas pós-parto, 40% da proteína bruta do colostro corresponde a IgG (LE BLANC *et al.*, 1986).

Um método eficaz para a dosagem de PT no colostro é o Micro-Kjedhal, onde a proteína total presente no leite pode ser calculada como nitrogênio protéico, multiplicado pelo fator 6,38 (MEO-SCOTONI & MACHADO NETO, 1992).

A composição do colostro pode variar em função de fatores como a individualidade do animal, raça, número de lactações, idade e manejo (MACHADO NETO, 2001). Segundo TOWNSEND *et al.* (1983), a indução do parto em éguas, afeta a transferência de imunidade passiva, visto que a indução de parto resultou em óbito dos potros e a concentração média de IgG nos potros nascidos de partos induzidos foi menor que nos potros controles. As explicações para esses resultados devem-se ao volume inadequado de

colostro produzido; absorção inadequada pelo potro, devido a seu baixo vigor físico associado com outros fatores tais como a variação entre indivíduos.

A imunidade celular como controle da parasitemia, ainda não está bem definida. Os potros recebem anticorpos passivos, via colostro, conferindo uma opsonização do parasito por granulócitos e macrófagos, ligação da fração Fc dos anticorpos e células citotóxicas. Certamente, para a obtenção de uma vacina efetiva para *Babesia equi*, mais estudos sobre o real mecanismo imunitário devem ser feitos (KNOWLES, 1996b). A presença de anticorpos em cavalos adultos e jovens de um determinado local indica uma área de estabilidade enzoótica, entretanto podem haver reagudizações através do constante contato com o carrapato, por queda na imunidade e desaparecimento dos anticorpos maternos em potros acima de três meses e que se infectaram no seu primeiro ano de vida (RIBEIRO *et al.*, 1999). Os potros desenvolvem condições de portadores assintomáticos devido à proteção adquirida pelos anticorpos maternos do colostro durando até cinco meses e, com posterior produção de imunidade ativa (ZAUGG & LANE, 1989).

A babesiose neonatal pode se caracterizar por fraqueza ao nascimento, anemia, icterícia, letargia para mamar o colostro e febre (ERBSLOH, 1975). Segundo PASSOS *et al.* (1999), os potros recém-nascidos tornam-se sorologicamente positivos para *Babesia equi* após a ingestão de colostro, entretanto 42% destes permanecem negativos para *Babesia caballi*, até 36 horas após o nascimento. RIBEIRO *et al.* (1995), observaram flutuações periódicas dos níveis de parasitemia de *Babesia equi* e *Babesia caballi* associadas a variações significativas do volume globular sangüíneo, em potros lactentes de rebanho eqüino com babesiose endêmica.

2.3. Imunomodulação

Devido à existência da infecção crônica em áreas endêmicas, o risco de reagudização dos animais portadores crônicos, a inexistência de uma vacina efetiva e a difícil eliminação do vetor na natureza, torna-se adequado o uso de imunomoduladores com o objetivo de aumentar a resposta imune dos animais infectados.

Um imunomodulador importante pode ser a vitamina E que age como protetor de membrana celular, antioxidante biológico, evita danos em fibras musculares cardíacas e esqueléticas, tendo atividade na coagulação sanguínea, transporte de elétrons, proteção do organismo a metais pesados, e possui mecanismo modulador da resposta imune dos animais protegendo os leucócitos e macrófagos durante a fagocitose (McDOWELL, 1989; CHEW, 1995). A vitamina E regula a função fagocítica das células brancas e sua função antioxidante permitindo uma resposta imune mais eficiente mantendo a integridade de células e tecidos (AZIZ & KLESIUS, 1986). A ação da vitamina E torna-se importante na integridade das membranas celulares, pois evita a peroxidação, principalmente na membrana mitocondrial, onde estão as enzimas envolvidas na produção de energia (CRANDELL, 2000).

KOTT *et al.* (1998), demonstrou que a suplementação de ovelhas gestantes com vitamina E, durante o período final da gestação, reduziu a mortalidade dos neonatos, enquanto GENTRY *et al.* (1992), reportaram que carneiros nascidos de ovelhas suplementadas com vitamina E apresentaram elevação do nível de IgG sérico. Segundo REDDY *et al.* (1986), bovinos suplementados com vitamina E apresentaram aumento de mediadores celulares e resposta imune humoral sugerindo maior proteção contra patógenos.

A vitamina E reduziu a síntese de certas prostaglandinas e corticóides, que inibem a mitose de linfócitos, no soro de ratos (REDDY *et al.*, 1986). Enquanto REFFET *et al.* (1988), observaram aumento nos níveis de IgG após suplementação de cordeiros com vitamina E, desafiados com o vírus Parainfluenza 3.

A suplementação de ovelhas prenhas com cápsulas gelatinosas de vitamina E, via oral, conferiu transferência de α -tocopherol aos cordeiros, via colostro (DANIELS *et al.*, 2000); enquanto GENTRY *et al.* (1992), reportaram que cordeiros nascidos de mães suplementadas com vitamina E apresentaram maior ganho de peso aos 30 e 90 dias pós-parto.

A forma de vitamina E mais encontrada nos tecidos dos eqüinos é o α -tocopherol, sendo também encontrado em forrageiras frescas e verdes e cereais, sendo necessário suplementação dietética com acetado de α -tocopherol (FRAPE, 1998). As taxas de absorção dos tocoferóis e tocotrienóis são, em geral, relativas à suas potências biológicas antioxidantes. O tocopherol atravessa a glândula mamária, e assim a dieta da fêmea influencia na reserva de vitamina E do filho ao nascimento através do colostro materno (McDOWELL, 1989). Entretanto, apenas 2% da vitamina E dietética é transferida da alimentação para o leite. A vitamina E no plasma é ligada principalmente a lipoproteínas da fração globulínica.

Bovinos suplementados com α -tocopherol apresentaram aumento da mitose de linfócitos T e B (REDDY *et al.*, 1987). A vitamina E associada ao selênio e aplicada em ovinos portadores de *Brucella ovis* mostraram aumento de anticorpos (AFZAL *et al.*, 1984).

A suplementação com vitamina E tem sido recomendada para potros, de 100 a 120mg, de 60 a 80mg, para cavalos de lazer e de 200 a 300mg, para cavalos de corrida, em doses diárias calculadas para cada 100Kg de peso vivo (CRANDELL, 2000). Segundo HOFFMAN *et al.* (1999), há um aumento significativo na concentração de IgG no soro de éguas gestantes suplementadas com 160 UI vitamina E/Kg/dia, com conseqüente aumento da concentração de IgG nos soros dos potros nascidos dessas éguas.

A deficiência de vitamina E pode causar distrofias musculares, reduzida imunidade a doenças, abortos e retenção de placenta (LEWIS, 1995). O uso de imunomoduladores, portanto, poderia aumentar o desempenho de éguas portadoras de infecção crônica por babesiose, incrementando a resposta imune de éguas e potros lactentes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização do Experimento

O experimento foi realizado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, com éguas gestantes das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier do Setor de Equinocultura do Instituto de Zootecnia, no período de agosto de 2001 a julho de 2002. Foram utilizadas oito éguas da raça Mangalarga Marchador e quatro éguas da raça Bretão Postier, identificadas em fichas individuais listando o nome, a idade, a raça e a data de cobrição dos animais.

No terço final da gestação e durante a lactação, as éguas receberam ração concentrada correspondente a 0,5% de peso vivo de cada animal e, foram mantidas em pastos de capim Colonião durante o dia e, à noite, foram recolhidas em piquetes para observação do parto.

A ração foi fornecida visando atender as exigências nutricionais descritas no *National Research Council* (NRC, 1989). A composição química da ração concentrada e do volumoso pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química da ração concentrada e do volumoso, expresso na base da matéria seca (MS).

Composição	Ração Concentrada		Volumoso
	Gestação	Lactação	
Matéria seca (%)	93,3	93,8	31,36
Proteína bruta (%MS)	15,1	13,8	12,3
Matéria mineral (%MS)	7,3	6,6	6,8
FDN (% MS)	***	***	63,4
FDA (% MS)	***	***	31,5

3.2.Tratamentos

As éguas foram distribuídas em três tratamentos descritos a seguir: TRATAMENTO I (Grupo Controle): foram utilizadas quatro éguas da raça Mangalarga Marchador, mantidas em pastos de capim colonião, e suplementadas com ração concentrada em quantidades equivalentes a 0,5% do peso vivo, durante 30 dias pré-parto; TRATAMENTO II: foram utilizadas quatro éguas da raça Mangalarga Marchador, consumindo dieta semelhante a do grupo controle, com adição diária na dieta de 80 mg de vitamina E/100Kg de peso vivo, durante 30 dias pré-parto. TRATAMENTO III: foram utilizadas quatro éguas da raça Bretão Postier, consumindo dieta semelhante a do grupo controle, com adição diária na dieta de 80 mg de vitamina E/100Kg de peso vivo, durante 30 dias pré-parto.

A administração de vitamina E iniciou-se após a segunda semana de colheita de amostras das éguas, e finalizou-se anteriormente ao parto. Os potros não foram

suplementados com vitamina E na dieta, entretanto há passagem passiva de α -tocopherol, via colostro. A Vitamina E, em pó foi cedida pela ROCHE[®], e pesada individualmente para cada animal e oferecida juntamente com a ração, pela manhã, uma vez ao dia.

Na Tabela 2, podem ser observados os valores médios do peso vivo das éguas e das quantidades de ração concentrada, volumoso e vitamina E ingerida. As quantidades ingeridas de volumoso foram estimadas segundo o NRC (1989) e os teores de vitamina E nos alimentos concentrados (milho, farelo de trigo e farelo de soja) e volumoso (capim colômbio) foram estimados segundo o NRC (1989) e ALLISON & LAVEN (2001).

Tabela 2. Valores médios do peso vivo, das quantidades de ração concentrada, do volumoso e da vitamina E presente nos componentes da dieta (concentrado e volumoso), das éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E e das éguas da raça Mangalarga Marchador (MM) do grupo controle.

Tratamentos	Éguas (PV) (Kg)	Consumo Dietético Diário (MS)			Vitamina E (mg/KgMS)
		Concentrado (Kg)	Volumoso (Kg)	Total (Kg)	
MM- Controle	446	2,1	5,2	7,3	73,5
MM -Vitamina E	416	1,9	4,9	6,8	124,1
BP - Vitamina E	579	2,6	6,5	7,1	123,5

3.3. Colheita de Amostras

Realizou-se avaliação clínica constante dos animais utilizando parâmetros como coloração de mucosas, auscultação abdominal, presença de edema abdominal e de membros e mudança de comportamento. A avaliação do hemoparasitismo realizou-se através da confecção de esfregaços sangüíneos, obtidos por punção de veia jugular, segundo PORTZ (2002), os quais foram fixados em metanol e corados seguindo o método de Giemsa ou *Panótico Rápido* Laborclin[®]. Os exames microscópicos foram realizados por microscopia de imersão utilizando microscópio com ocular 10X e objetiva de 100. O parasitismo sangüíneo foi avaliado considerando os índices de parasitemia pela presença de formas evolutivas de *Babesia equi*.

As colheitas de sangue das éguas foram realizadas duas semanas antes do início da suplementação com vitamina E até duas semanas após o parto, em intervalos de sete dias, obtidas por colheita de 5 ml de sangue da veia jugular em tubos siliconizados com gel retrator de coágulo. Após a coagulação do sangue, o soro foi separado, centrifugado a 600xg por 10 min, acondicionados em *Eppendorf* e mantidos a - 20° C, até serem submetidos à técnica de ELISA.

Os procedimentos experimentais nos potros foram semelhantes, com colheitas de sangue logo após o parto, antes da amamentação, e nas semanas subseqüentes, totalizando doze semanas. A avaliação hematológica dos animais realizou-se em até 12 horas após colheita de 3 ml de sangue da veia jugular, procedida em tubos com anticoagulante EDTA. A análise hematológica e do leucograma seguiram o protocolo de NAVARRO &

PACHALY (1994), e as concentrações de proteína total e fibrinogênio foram determinadas, por refratometria segundo metodologia descrita por COLES (1974).

Foram colhidas três amostras de colostro de cada égua após o parto: a primeira foi colhida imediatamente após o parto e antes do potro mamar, a segunda 24 horas e a terceira 48 horas após o parto, respectivamente.

As amostras de colostro foram acondicionadas em tubos FALCON[®], devidamente identificados, e armazenados a -20°C. Nessas amostras, foram determinados os teores de proteína total (PT) pelo método Micro-Kedjhal, estimando-se a concentração de IgG, segundo metodologia descrita por MEO-SCOTONI & MACHADO NETO (1992).

3.4. Procedimentos para Obtenção de Antígeno para o Teste de ELISA

Desenvolveu-se um ensaio imunoenzimático para a detecção de anticorpos para *Babesia equi*, segundo metodologia descrita por BÖSE & PEYMANN, (1994), modificada para a produção de antígeno a partir de animais esplenectomizados. Para a produção de antígeno foi utilizado um equino macho, de dois anos idade aproximadamente, proveniente do Curral de Apreensão da UFRRJ. Este animal foi conduzido ao Setor de Grandes Animais do Hospital Veterinário da UFRRJ, onde foi vermifugado e pulverizado com carrapaticida. Após este procedimento, o animal foi mantido em baia individual e submetido ao tratamento de quimioesterilização contra *Babesia caballi*, com diminazene (Beronal[®]), na dose de 5mg/kg, em duas aplicações, com intervalo de 24 horas. Após a medicação, o animal foi mantido em isolamento, e submetido a pulverizações semanais de carrapaticida, até a realização da esplenectomia, executada segundo protocolo cirúrgico descrito por BOTTEON (2003).

No 10º dia após a esplenectomia, fez-se a inoculação de 4ml de uma amostra com aproximadamente 30% de células parasitadas por *Babesia equi*, procedente da UNESP-Campus de Jaboticabal, e quando a parasitemia atingiu 80%, foram colhidos aproximadamente dois litros de sangue total diluído na proporção de 1:1 em solução de Alsever (ANDRADE, 2000). O sangue obtido foi processado no laboratório de Viroses Veterinárias da UFRRJ e na UNESP-Campus Jaboticabal, para produção de antígeno para o teste de ELISA.

No concentrado de hemácias obtido, os eritrócitos foram submetidos à lise, desprezando-se o sobrenadante e, o sedimento foi lavado e centrifugado por três vezes consecutivas. O sedimento final, contendo os merozoítos foi resuspenso em PBS na razão de 1:4 e, esta suspensão foi submetida a sete ciclos sucessivos de congelamento em nitrogênio líquido e descongelamento em banho-maria a 37 °C para lise dos merozoítos. O sobrenadante contendo o antígeno bruto de *Babesia equi* foi aspirado e a concentração protéica do antígeno bruto foi dosada pelo método de Folin-Lory (1951) citado por BOTTEON (2003), ajustando-se a concentração protéica para 100µl/ml de PBS. O antígeno obtido foi separado em alíquotas e liofilizado até o momento do uso.

3.5. Técnica de ELISA Indireto para Detecção de Anticorpos de *Babesia equi*

As diluições ótimas de antígeno, soro controle positivo, soro controle negativo e conjugado foram determinadas através de titulação em bloco, em quatro diluições de antígeno, 5µg/ml, 10µg/ml, 15µg/ml e 20µg/ml, quatro diluições de soros positivos e

negativos de 1:100 a 1:800 e diluições do conjugado (anti-horse IgG SIGMA[®] número A0918) de 1:500 a 1:8000, respectivamente. Como branco, empregou-se a leitura de orifícios contendo todos os elementos da reação com exceção do soro equino. Considerou-se como positivo as reações que apresentaram densidade óptica maior que as médias dos controles negativos acrescidas de dois desvios-padrão. A leitura da reação foi realizada em espectrofotômetro para ELISA (Labsystems[®] IEMS Reader MF), com filtro de 405 nm. Utilizou-se a microplaca (NUNCLON[™] Surface[®]) para a técnica de ELISA, devido a sua confiabilidade.

Inicialmente, fez-se a adsorção do antígeno na microplaca de ELISA onde foram adicionados a cada cavidade das microplacas, 100µl de antígeno diluído em tampão Carbonato-bicarbonato de sódio 0,05 M pH 9,6 (ANDRADE, 2000) ajustando-se sua concentração protéica para 10µg/mL. As microplacas foram incubadas, em câmara úmida, a 37°C por doze horas. Posteriormente, entre cada etapa, as placas foram submetidas a três lavagens utilizando o tampão PBS 0,01 M pH 7,4 contendo 0,05% de Tween 80 (ANDRADE, 2000).

O bloqueio das microplacas foi realizado pela adição de 200µl em cada cavidade com o tampão PBS Tween 80, adicionado de 6% de leite em pó desnatado. Incubou-se em câmara úmida, à 37°C, por duas horas. Os soros teste e os soros de referência positivo e negativo foram ensaiados em duplicata na diluição 1:100 em tampão PBS Tween 80 adicionado de 5% de leite em pó desnatado. Após a adição de 100µl dos soros diluídos, as microplacas foram novamente incubadas em câmara úmida. Adicionou-se a cada cavidade das microplacas 100µl de conjugado na diluição de 1:1000 em tampão diluente (PBS Tween 80 adicionado de 5% de leite em pó desnatado), com as microplacas novamente incubadas em câmara úmida.

Foram, então, adicionados a cada cavidade das microplacas, 100µl de solução de substrato da reação (fosfatase alcalina) diluído em tampão Dietanolamina (ANDRADE, 2000). Incubou-se a reação por 45 minutos e a leitura da reação foi realizada em um espectrofotômetro para ELISA com filtro de 405 nm, adotando-se como branco da reação, a cavidade da microplaca que continha todos os elementos da reação, exceto o soro equino.

A atividade imunológica em cada soro no teste de ELISA indireto foi calculada de acordo com o seu valor A/P (amostra em relação ao positivo). O valor A/P de cada amostra de soro na diluição 1:100 foi obtido, levando-se em consideração os soros de referência positivos e negativos também na diluição de 1:100, de acordo com a seguinte fórmula:

$$AP = \frac{\text{Absorbância média da amostra} - \text{Absorbância média do soro referência negativo}}{\text{Absorbância média do soro de referência positivo} - \text{Absorbância média do soro de referência negativo}}$$

Os valores A/P foram agrupados em índices de ELISA (IE), que variam de zero a nove. O limite máximo do nível zero foi determinado pela média dos valores A/P de soros de animais não imunes a *Babesia equi*, acrescido de dois desvios padrão. A partir desse limite, os intervalos entre os outros índices de ELISA foram definidos pelo acréscimo de 35%, segundo descrito por MACHADO (1991).

3.6. Delineamento Experimental e Análises Estatísticas

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos em arranjo de parcelas sub-divididas, onde os tratamentos (suplementação dietética ou não com vitamina E) foram analisadas nas parcelas e o tempo (semanas) nas sub-parcelas.

Na análise dos parâmetros hematológicos e sorológicos das éguas, foram utilizados como parâmetro de tempo, seis semanas equidistantes, onde as semanas de um a quatro, correspondem ao último mês de gestação, a semana cinco corresponde a semana da ocorrência do parto, e a semana seis, corresponde a primeira semana pós-parto.

Na análise dos parâmetros hematológicos e sorológicos dos potros, a primeira semana refere-se a colheita das amostras antes da amamentação do potro e, as semanas subsequentes correspondem a 3^a, 5^a, 7^a, 9^a e 11^a semana de idade.

Os valores de proteína total e IgG do colostro foram submetidas a análise de variância em arranjo de parcelas subdivididas, onde os tratamentos 1, 2 e 3 correspondem aos potros nascidos das éguas do Grupo controle e das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier, respectivamente, cujas dietas foram suplementadas com vitamina E. Os valores médios obtidos foram analisados nas parcelas, e o tempo expresso em horas pós-parto, nas subparcelas.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e os valores médios comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os resultados hematológicos das éguas e potros, avaliados em função das semanas, foram submetidos à análise de regressão, adotando o nível de significância de 1% de probabilidade, utilizando o programa Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG (UFV, 2000).

Os resultados dos esfregaços sangüíneos para pesquisa de *Babesia equi* foram comparados com os resultados do teste sorológico de ELISA indireto, utilizando todas as semanas do período experimental, das éguas e dos potros. Utilizou-se o teste não-paramétrico de McNemar, de duas amostras relacionadas, do programa BioStat 2.0 (AYRES *et al.*, 2000).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Identificação de Carrapatos Colhidos Durante o Experimento

A estação de parição das éguas ocorreu no período de agosto de 2001 a junho de 2002, coincidindo com a época de altas infestações nas pastagens de larvas, ninfas e adultos de ixodídeos, propiciando a infestação dos potros nos primeiros dias de vida.

Durante o período experimental, foram colhidos carrapatos dos animais para identificação, observando-se a presença de *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens*, e, ausência de *Boophilus microplus*. Estes equinos não foram criados juntamente com bovinos.

Com o aumento da população de larvas e ninfas no inverno, a transmissão ocorre na primavera e verão, na fase adulta, portanto a alta infestação de carrapatos nos equinos justifica a denominação de área endêmica para a babesiose equina, no plantel da UFRRJ (PFEIFER BARBOSA *et al.*, 1995).

4.2. Estimativa da Concentração do IgG do Colostro

O parto das éguas foi assistido, e as amostras de colostro, de aproximadamente 50ml, foram colhidas antes do potro mamar e, com 24 e 48 horas pós-parto. As amostras foram analisadas quanto à concentração de proteína total (PT), pelo método de Micro-Kjedhal, considerando o fator de conversão de 6,38.

Na Tabela 3 podem ser observados os valores médios da proteína total e IgG no colostro das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.

Tabela 3. Valores médios das concentrações de IgG e proteína total (PT) no colostro das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentados com dietas suplementadas com vitamina E.

Tempo	Tratamentos			Média	CV (%)
	Controle MM	Vit E MM	Vit E BP		
IgG (mg/ml)					
Parto	10,2	9,6	10,2	10,0a	70,0
24h	0,5	0,4	0,3	0,4b	
48h	0,3	0,4	0,4	0,3b	
PT (%)					
Parto	25,5	23,9	25,5	25,0a	60,1
24h	5,4	4,0	3,1	4,2b	
48h	3,5	4,1	4,0	3,8b	

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Os valores médios da concentração de IgG, em função do tempo de colheita estão ilustrados na Figura 1.

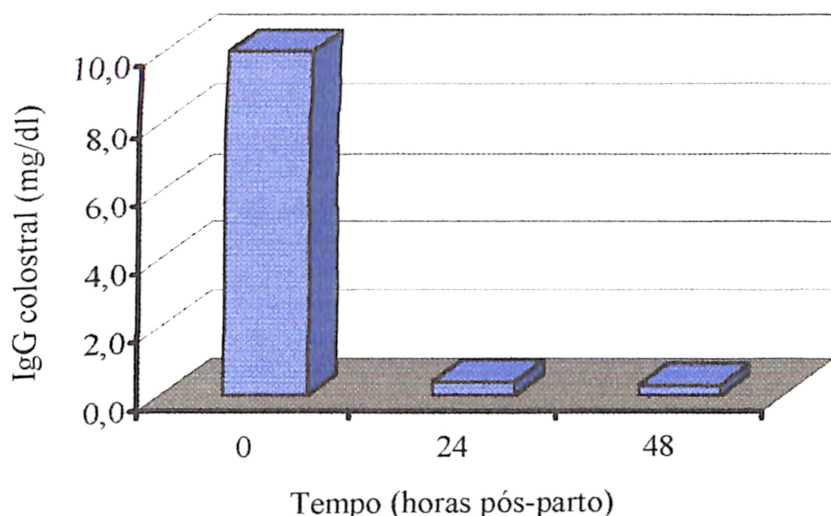


Figura 1. Valores médios do IgG colostrado das éguas em função do tempo de colheita em horas pós-parto

Em relação ao tempo de colheita do colostro, observou-se que as concentrações de PT foram maiores ($P < 0,05$) antes do início da amamentação, comparando com as amostras coletadas as 24 e 48 horas, concordando com LE BLANC *et al.*, (1986) e ROUSE & INGRAM (1970), que relataram diminuição de PT e IgG no colostro com o passar do tempo após o parto.

Não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos na concentração de PT e IgG colostrado, indicando que não houve resposta imunoestimuladora da vitamina E no colostro das éguas. Estes resultados discordam de HOFFMAN *et al.*, (1999) que relatam aumento do IgG no colostro, após suplementação com vitamina E, de éguas no pré-parto, entretanto estes animais não eram portadores de *Babesia sp.*

A cor amarelada e a viscosidade do colostro estiveram associadas à concentração de PT e, conseqüentemente, a de IgG.

4.3. Detecção de Anticorpos para *Babesia equi* nas Éguas pelo Teste de ELISA

Indireto.

A concentração ótima do antígeno de *Babesia equi* foi de $10 \mu\text{g/ml}$ de tampão carbonato-bicarbonato $0,05\text{M}$ pH 9,6, a diluição do soro foi estabelecida em 1:100 e a conjugado em 1:1000.

Obteve-se a absorbância média dos soros positivos em $0,906 \pm 0,119$ e a absorbância média dos soros negativos em $0,197 \pm 0,038$. O tempo de leitura foi estabelecido em 40 minutos, como o menor tempo necessário para uma boa diferenciação

entre os controles positivos e negativos, sem permitir leitura significativa no branco da reação ($D.O. = 0,096 \pm 0,003$).

A determinação do índice de ELISA (IE) foi elaborada segundo descrição de BOTTEON (2003). Os índices de ELISA (IE), que variam de 0 a 9 de acordo com a intensidade da resposta, foram classificados nos três grupos descritos a seguir: grupo 1 - IE de zero, significando ausência de anticorpos; grupo 2 - IE de 1 a 3, significando soros fracamente positivos; grupo 3- IE de 4 a 6, significando soros de média positividade e grupo 4- IE de 7 a 9, significando soros fortemente positivos.

Não foram observados efeitos significativos da suplementação com vitamina E nas dietas das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier e o período experimental, nos IE das éguas do experimento. Na Figura 2, estão demonstrados os valores médios dos índices de ELISA classificados (CELISA).

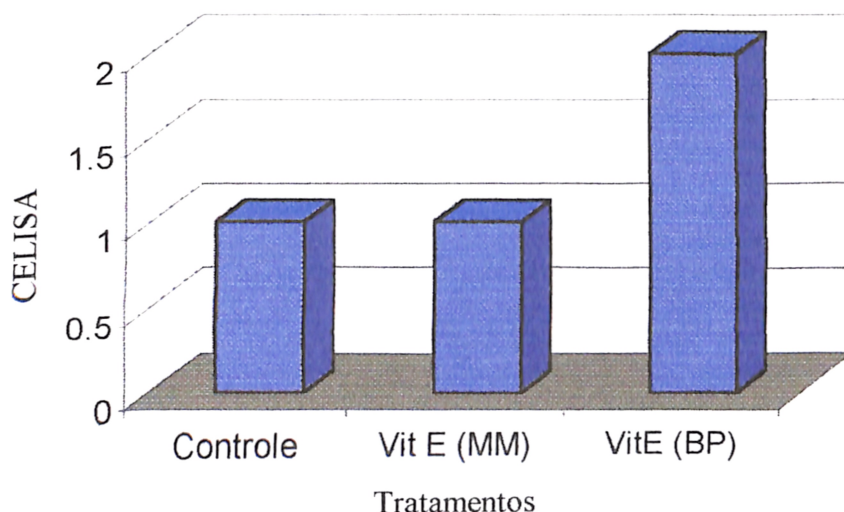


Figura 2. Valores médios do CELISA das éguas das raças Mangalarga Marchador controle e Mangalarga Marchador e Bretão Postier com dietas suplementadas com vitamina E

Os resultados demonstram títulos de anticorpos fracamente positivos nas éguas de ambas as raças. O parto parece não ter contribuído como fator de estresse para a redução do nível de anticorpos, portanto não se verificou efeito significativo da vitamina E na resposta humoral das éguas.

O CELISA fracamente positivo nas éguas da raça Bretão Postier pode ser justificado pela ocorrência clínica da *Babesia equi* em uma das éguas da raça Bretão Postier, alterando os valores médios do grupo experimental. O resultado do acompanhamento do caso clínico está descrito no Item 4.8. Os resultados sorológicos indicam uma estabilidade enzoótica devido ao título baixo de anticorpos e a constante reinfecção das éguas no Setor de Equinocultura da UFRRJ.

Estes resultados estão de acordo com CUNHA *et al.* (1998), relatando que na fase crônica da infecção por *Babesia equi* ocorre persistência dos títulos de anticorpos sem alteração significativa no hematócrito.

Os resultados da incidência da babesiose concordam com PFEIFER BARBOSA *et al.* (1995), que relatou 100% de positividade para *Babesia equi* em soros de eqüinos da UFRRJ, confirmando a denominação de área endêmica para babesiose eqüina.

4.4. Detecção de Anticorpos para *Babesia equi* nos Potros pelo Teste de ELISA Indireto.

O mesmo procedimento para classificação do índice de ELISA foi aplicado nos soros dos potros. Os valores não diferiram significativamente em função da suplementação com vitamina E nas dietas das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier porém apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) em função da idade do potro, expressas em semanas, conforme está demonstrado na Tabela 4 e na Figura 3.

Tabela 4. Índices médios de CELISA dos potros das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier.

Tratamentos	Tempo (semanas)					
	1	3	5	7	9	11
Controle	1	1	1	1	2	2
Vit E -MM	1	1	1	1	2	2
Vit E -BP	1	1	2	2	2	3

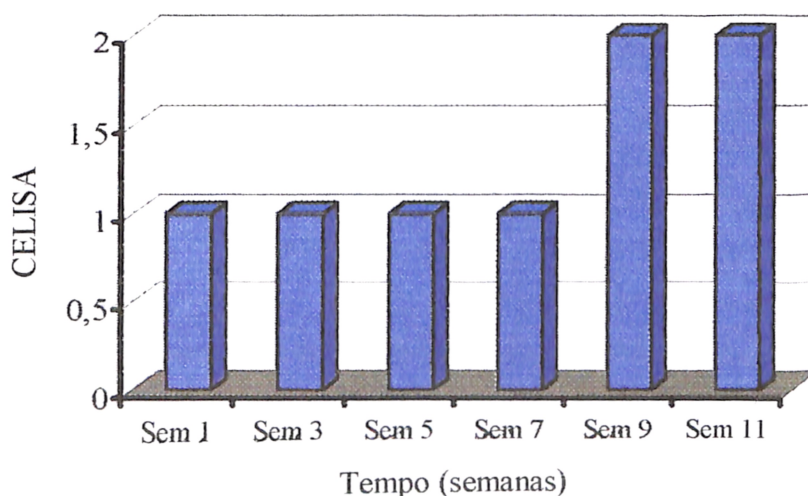


Figura 3. Índices médios do CELISA em função da idade dos potros expressas em semanas, das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier

Segundo JEFFCOTT (1972), a transferência passiva de anticorpos só ocorre através da ingestão do colostro nos equinos. Considerando que a primeira semana de idade representa a colheita de sangue no dia do parto, antes da primeira amamentação, explica-se o resultado sorológico negativo pela ausência de anticorpos.

Após a primeira semana de idade, o CELISA eleva-se pela absorção de anticorpos de forma passiva e, ao mesmo tempo, os potros infestaram-se com os carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens* ocorrendo, com o passar das semanas, a primo-infecção. Nas figuras 4, 5 e 6 podem ser observados os índices de ELISA (IE) individuais dos potros para cada tratamento.

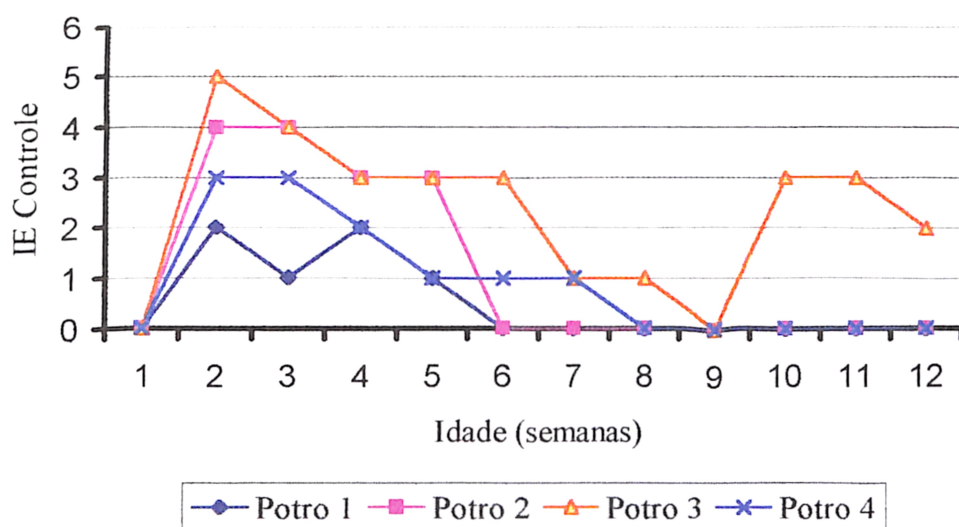


Figura 4. Índices de ELISA individuais dos potros da raça Mangalarga Marchador do grupo controle cujas éguas foram alimentadas com dietas não suplementadas com vitamina E.

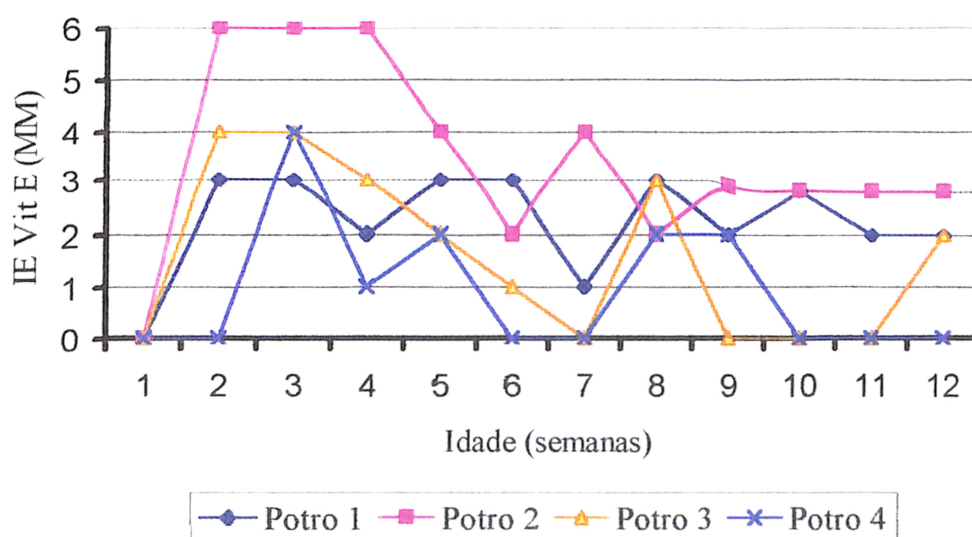


Figura 5. Índices de ELISA individuais dos potros da raça Mangalarga Marchador cujas éguas foram alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

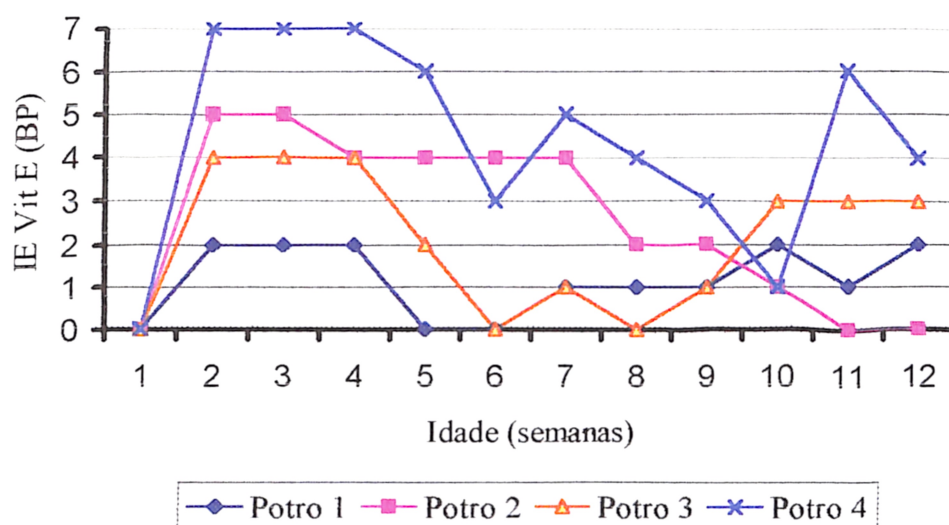


Figura 6. Índices de ELISA individuais dos potros da raça Bretão Postier cujas éguas foram alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

Observa-se um aumento de anticorpos após a primeira semana de idade, devido aos anticorpos passivos, e posteriormente, há uma tendência de redução com nova elevação a partir da sétima semana nos potros nascidos de éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E. Esta elevação pode estar relacionada à resposta ativa dos potros após infecção natural por *Babesia equi*. Em alguns potros, pode-se observar carrapatos fixados na conjuntiva e ao redor do ânus, no primeiro dia de idade.

Os resultados obtidos são concordantes com os observados por SHEIN (1988), que relata a primo-infecção moderada em potros de áreas endêmicas. Considerando que, no presente experimento, os potros foram avaliados até 12 semanas de idade, os resultados estão de acordo com as observações de RIBEIRO *et al.* (1995) e PASSOS *et al.* (1999) que relataram infecções por *Babesia equi* em potros após o nascimento, com hemoparasitemia antes de 42 dias de idade, em áreas endêmicas. Embora a resposta ativa tenha ocorrido aproximadamente aos 42 dias de idade, sétima semana, os potros deste presente experimento não apresentaram qualquer sintoma da infecção por *Babesia equi*.

Pode-se observar também, que um potro da raça Mangalarga Marchador e outro da raça Bretão Postier cujas éguas foram alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E, apresentaram índices de ELISA mais elevados do que os do grupo controle, conforme Figuras 8 e 9. Este fato pode ser explicado pela presença de títulos de anticorpos altos, em ambas as éguas mostrando uma resposta passiva mais eficiente.

Os potros apresentaram índices de ELISA mais elevados do que as éguas, concordando com os resultados de TENTER & FRIEDHOFF. (1986), e CUNHA *et al.* (1996) relatando redução gradual dos títulos de anticorpos para *Babesia equi*, com o aumento da idade dos animais. Em áreas endêmicas, os animais adultos tendem a possuir baixo título de anticorpos devido as constantes reinfecções pela infestação por carrapatos, já os potros sofrem a primo-infecção com altos títulos de anticorpos e, com posterior declínio.

4.5. Avaliação do Hemoparasitismo em Esfregaços Sanguíneos em Comparação com a Sorologia pelo ELISA Indireto das Éguas e Potros

Os esfregaços sanguíneos foram confeccionados a partir de amostras de sangue da veia jugular, segundo descrito por PORTZ *et al.* (2002), e avaliados para verificação da presença ou ausência das formas evolutivas e de Cruz de Malta, características de *Babesia equi*. Os esfregaços sanguíneos nos potros foram confeccionados de forma similar às éguas.

A comparação da eficiência do diagnóstico através do esfregaço sanguíneo e do teste de ELISA indireto das éguas pode ser observada na Tabela 5, onde se verifica que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os resultados positivos e negativos em ambos os métodos de diagnóstico.

Tabela 5. Comparação da eficiência do diagnóstico de *Babesia equi* através do esfregaço sanguíneo e do teste de ELISA indireto em éguas

	ELISA (+)	ELISA (-)	Total
Esfregaço (+)	38	35	73
Esfregaço (-)	34	37	71
Total	72	72	144

Teste não paramétrico de McNemar (Teste de χ^2 a 5% de probabilidade)

BOSE *et al.* (1995) e KERBER (2001), relatam a baixa sensibilidade da técnica esfregaço sanguíneo resultando em confundimento do hemoparasita com artefatos de técnica, durante a fase crônica da doença. Estima-se que na fase crônica, os esfregaços sanguíneos que resultaram negativo tenham apresentado diagnóstico falso-negativo, entretanto, os resultados obtidos neste experimento demonstram que a técnica do esfregaço pode ter se tornado mais confiável, em função do número de repetições utilizadas nas 12 semanas.

Foi observado em uma égua Mangalarga Marchador, a presença da *Babesia caballi* enquanto que o resultado no teste de ELISA indireto para *Babesia equi* foi negativo. O teste de ELISA, neste caso isolado, não apresentou reação cruzada para *Babesia caballi*, como consta na literatura de PFEIFER BARBOSA *et al.*, (1995).

A comparação da eficiência do diagnóstico através do esfregaço sanguíneo e do teste de ELISA indireto dos potros pode ser observada na Tabela 6.

Tabela 6. Comparação da eficiência do diagnóstico de *Babesia equi* através do esfregaço sanguíneo e do teste de ELISA indireto em potros

	ELISA (+)	ELISA (-)	Total
Esfregaço (+)	45	25	70
Esfregaço (-)	51	23	74
Total	96	48	144

Teste não paramétrico de McNemar (Teste de χ^2 a 5% de probabilidade)

Os resultados dos potros indicam um maior número de esfregaços sanguíneos negativos do que os resultados positivos no teste ELISA indireto podendo ter ocorrido em função de uma baixa parasitemia. Esses resultados estão de acordo com os observados por DE WAAL (1992) e CUNHA *et al.* (1998), que relatam a sensibilidade reduzida do esfregaço sanguíneos em baixas parasitemias.

Segundo RIBEIRO *et al.* (1995), os primeiros eritrócitos parasitados por *Babesia sp.* foram encontrados na primeira semana de idade dos potros demonstrando que os recém-nascidos, ao serem infestados por carrapatos, sofrem infecção por protozoários.

A comparação dos esfregaços sanguíneos individuais dos animais, no dia do nascimento, revelou que três potros nascidos das éguas do Grupo controle estavam positivos, três potros nascidos das éguas da raça Mangalarga Marchador cujas dietas foram suplementadas com vitamina E também estavam positivos e, que nenhum potro nascido de éguas da raça Bretão Postier estavam positivos. Este fato poderia ser explicado pela infecção intrauterina de *Babesia equi*, onde ocorre a passagem de eritrócitos parasitados pela barreira placentária, e que parece ser relativamente comum em áreas endêmicas (NEITZ, 1956; ERBSLÖH, 1975; DE WAAL, 1992).

Os resultados não confirmam os estudos de PFEIFER BARBOSA *et al.* (1995), que observaram uma incidência de 100% de *Babesia equi* em potros da UFRRJ.

O ELISA indireto demonstrou ser um ótimo instrumento de verificação do grau de imunidade estabelecida por infecção natural, concordando com BOTTEON (2003).

4.6. Avaliação dos Parâmetros Hematológicos das Éguas

Na Tabela 7, podem ser observados os valores médios hematológicos da hematimetria, hematócrito, hemoglobina e fibrinogênio em éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

Tabela 7. Valores médios da hematologia de éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

Variáveis	Tratamentos			Média	CV (%)	Valores normais*
	Controle	Vit E	Vit E			
	MM	MM	BP			
Hematologia						
HEM (10 ⁶ /μl')	6,4a	6,1a	6,42a	6,3	18,5	5,5 a 9,5
HT (%)	28,7a	28,4a	26,2a	27,8	5,6	24 a 44
HB (g/dl)	8,8a	8,6a	8,2a	8,5	8,0	8 a 14
FIB (g/dl)	0,4a	0,4a	0,3a	0,3	32,6	0 a 0,6
VGM (mm ³)	44,8ab	46,5a	40,9b	-	20,2	37 a 58,5
CHGM (%)	30,7b	30,3b	31,3a	-	10,2	31 a 38,5

HEM = hematimetria; HT = hematócrito; HB = hemoglobina; FIB = fibrinogênio; VGM = volume globular médio; CHGM = concentração de hemoglobina globular média.

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

* NAVARRO & PACHALY (1994)

Não foram observados efeitos significativos da suplementação de vitamina E nas dietas das éguas e do tempo do período experimental, cujos valores médios foram para hematimetria, de $6,3 \times 10^6/\mu\text{l}$, para o hematócrito, de 27,8%, para hemoglobina, de 8,5g/dl e para o fibrinogênio, de 0,3g/dl. Estes valores estão dentro dos limites normais para equinos adultos, do tipo linfático, para hematimetria, de 5,5 a $9,5 \times 10^6/\mu\text{l}$, para hematócrito, de 24 a 44%, para hemoglobina, de 8 a 14g/dl e para fibrinogênio, de 0,2 a 0,6g/dl, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Os valores médios do volume globular médio e da concentração da hemoglobina globular média apresentaram diferenças significativas entre as éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

O valor médio do volume globular médio nas éguas do grupo controle, de $44,8/\text{mm}^3$ não diferiu ($P > 0,05$) do valor observado nas éguas da raça Mangalarga Marchador alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E, de $46,5/\text{mm}^3$, entretanto considerando os valores médios do volume globular médio das éguas alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E, as éguas da raça Bretão Postier, apresentaram valor significativamente inferior, de $40,9/\text{mm}^3$, o que está relacionado a diferenças raciais.

Os valores médios do volume globular médio observados nas éguas estão dentro dos limites normais, de 37,0 a $58,5/\text{mm}^3$, para equinos adultos do tipo linfático, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Os valores médios da concentração de hemoglobina globular média nas éguas da raça Mangalarga Marchador, não diferiram ($P > 0,05$) independente da suplementação com vitamina E que foram de 30,7 e de 30,3%, para as éguas do grupo controle e éguas da raça Mangalarga Marchador suplementadas. Considerando as éguas da raça Bretão Postier, a suplementação da dieta com vitamina E aumentou significativamente o CHGM, observando o valor de 31,3%.

Os valores médios do CHGM nas éguas da raça Mangalarga Marchador e Bretão Postier estão dentro do limite de normalidade, de 31,0 a 38,5%, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Observou-se efeito significativo do período experimental nos valores médios do volume globular médio e proteína plasmática total nas éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E, que podem ser observados na Tabela 8.

Tabela 8. Médias e equações de regressão (ER) do volume globular médio (VGM) e proteína plasmática total (PT) em função das semanas experimentais em éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

Variáveis	Semanas						ER	CV %	Valores normais*
	1	2	3	4	5	6			
VGM (mm^3)	40,3	42,1	45,7	46,2	49,4	51,9	1	20,2	37 a 58,5
PT (g/dl)	8,1	8,0	8,2	8,2	8,0	7,2	2	6,3	5,8 a 8,7

¹ $\hat{Y} = 37,8 + 2,32X$, $r^2 = 14,7$ ($P < 0,01$); ² $\hat{Y} = 75,9 + 5,11X - 9,10X^2$, $r^2 = 22,9$ ($P < 0,01$), onde X significa semanas

* NAVARRO & PACHALY (1994)

Observa-se resposta linear positiva ($P < 0,01$) dos valores médios do volume globular médio em função das semanas do período experimental, com valores variando de 40,3 a 51,9/ mm^3 , como pode ser observado na Figura 7.

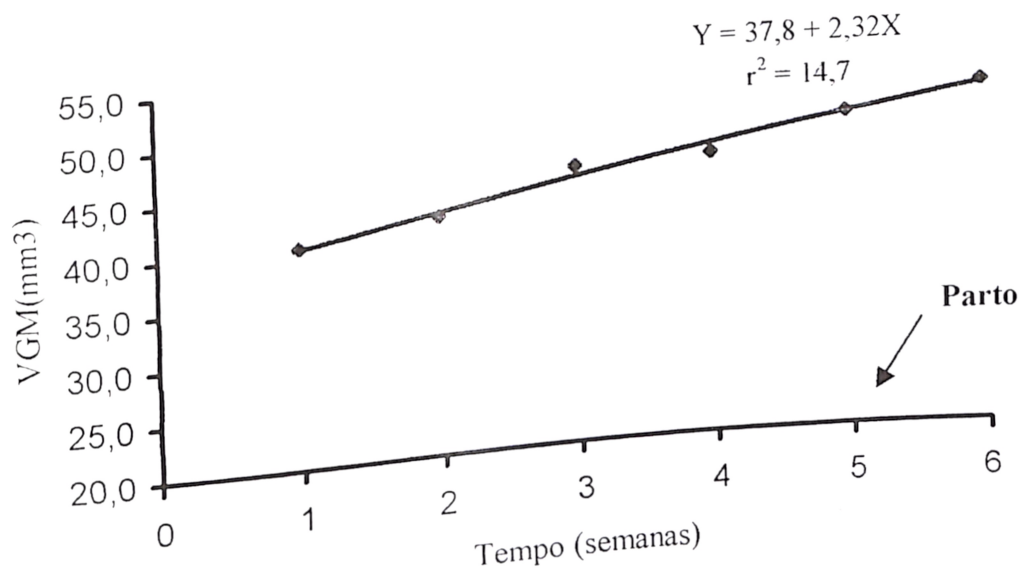


Figura 7. Estimativas dos valores médios do VGM das éguas em função do período experimental.

Os valores médios do volume globular médio estão dentro dos limites normais para eqüinos do tipo linfático, de 37,0 a 58,5/ mm^3 , descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Observa-se resposta quadrática ($P < 0,01$) dos valores médios da proteína plasmática total em função das semanas do período experimental, com valores variando de 8,1 a 7,2g/dl, como pode ser observado na Figura 8.

Os valores médios da proteína plasmática total estão dentro dos limites normais para eqüinos do tipo linfático, de 5,8 a 8,7g/dl, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Os resultados dos parâmetros hematológicos não sugerem uma alteração significativa entre as éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E. Observou-se um aumento linear no decorrer das semanas, do VGM, sugerindo um processo de regeneração celular.

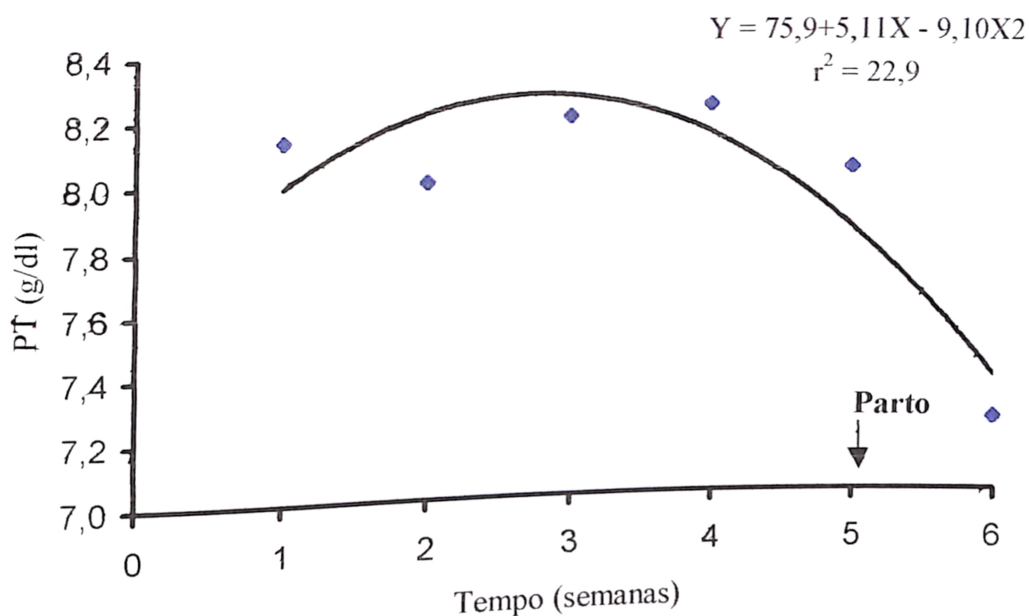


Figura 8. Estimativas dos valores médios da PT das éguas em função do período experimental.

RUDOLPH *et al.*, (1975) observaram redução do VGM, relacionando este fato com a fagocitose de eritrócitos normais e parasitados, na fase aguda da doença, discordando dos resultados observados neste experimento, onde houve um aumento linear do VGM no decorrer das semanas do período experimental. Os resultados obtidos no presente experimento são concordantes com as observações de CUNHA *et al.*, (1998), relatando que na fase crônica da infecção por *Babesia sp.*, não houve alterações significativas no hematócrito de equinos.

A concentração de proteína plasmática total apresentou um aumento até a semana da ocorrência do parto, na 5ª semana, decrescendo no pós-parto, na 6ª semana. Essas observações podem estar associadas ao direcionamento das proteínas plasmáticas para produção do colostro no parênquima mamário. Segundo Roberts *et al.* (1962), citado por RUDOLPH *et al.* (1975), a PT não se altera nos casos agudos da babesiose.

Os valores médios do fibrinogênio no plasma das éguas estão dentro dos parâmetros de normalidade indicando a ausência de processos inflamatórios.

Em relação as variáveis do leucograma, podem ser observados na Tabela 9, os valores médios dos monócitos, eosinófilos e basófilos nas éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

Não foram observados efeitos significativos da suplementação de vitamina E nas dietas das éguas e do tempo do período experimental, cujos valores médios foram para monócitos, de 1656,0/mm³, para eosinófilos, de 818,0/mm³, e para basófilos, de 129,2/mm³.

Tabela 9. Valores médios do leucograma em éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

Variáveis	Tratamentos			Média	CV (%)	Valores normais*
	Controle MM	Vit E MM	Vit E BP			
Leucograma						
MON (mm ³)	1621,0a	1651,0a	1694,0a	1656,0	71,1	0 a 1000
EOS (mm ³)	1025,0a	852,0a	578,0a	818,0	93,5	0 a 1000
BAS (mm ³)	107,5a	85,4a	194,8a	129,2	122,53	raros

MON = monócitos; EOS = eosinófilos; BAS = basófilos

Médias seguidas de letras iguais na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

* NAVARRO & PACHALY (1994)

Os valores médios estão dentro dos limites normais para eqüinos adultos, do tipo linfático, para eosinófilos, de zero a 1000/mm³, e para basófilos, descritos como raros na análises dos esfregaços, segundo NAVARRO & PACHALY (1994).

Em relação aos valores médios dos monócitos observa-se que, independente da suplementação de vitamina E, as éguas apresentaram valores acima dos limites normais, de zero a 1000/mm³, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994). Tal fato foi descrito por RUDOLPH *et al.*, (1975), quando observaram monocitose em resposta a infecções por *Babesia equi* em eqüinos adultos da raça PSI.

Observou-se interação significativa dos tratamentos e período experimental para os valores médios dos leucócitos, linfócitos e neutrófilos nas éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E, que podem ser observados na Tabela 10.

A análise de regressão dos valores médios dos leucócitos, linfócitos e neutrófilos em função do período experimental não foi significativa, exceto para a concentração de linfócitos nas éguas da raça Mangalarga Marchador do grupo controle. Nestas éguas observou-se resposta linear negativa dos valores médios dos linfócitos, com valores variando de 4717/mm³ a 2488/mm³, dentro dos limites de normalidade, de 1500 a 7700/mm³, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Em relação aos leucócitos, observa-se que, independente dos tratamentos, os valores médios variam de 11116 a 12912/ μ l, indicando a ocorrência de leucocitose nas éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

Tabela 10. Médias e equações de regressão (ER) do leucograma em função da interação entre semanas experimentais e tratamentos em éguas das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP) alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

Tratamento	Semanas						ER	CV %	Valores normais*
	1	2	3	4	5	6			
Leucócitos/ μ l									
Controle	15550a	13062a	9255b	15050a	12287a	9887ab	12515		
Vit E -MM	13875a	12800a	15412ab	10737ab	10875ab	13775a	12912	24,2	6000 a 12000
Vit E -BP	10820a	10775a	12350ab	11587ab	9625ab	11537ab	11116		
Linfócitos/mm ³									
Controle	4717a	2773a	2479b	3958a	2385a	2488b	1		
Vit E -MM	3243a	3553a	4744a	2952a	4093a	4368ab	3826	30,6	1500 a 7700
Vit E -BP	3100a	2947a	2836b	3100a	2550a	3317ab	2975		
Neutrófilos/mm ³									
Controle	8531a	7946a	4929b	7532a	7134a	5024ab	6849		
Vit E -MM	7063a	6648a	8677ab	5669ab	5096ab	7612a	6794	27,5	2300 a 8500
Vit E -BP	5501a	5581a	6481ab	6089ab	5159ab	5602ab	5736		

* $\bar{Y} = 42,1 - 3,09 X$, $r^2 = 13,8$ ($P < 0,01$); onde X significa semanas

Médias seguidas de letras diferentes, na coluna, para cada variável em cada semana, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

NAVARRO & PACHALY (1994)

Os valores médios dos neutrófilos, independente dos tratamentos, variaram de 5736 a 6849/ mm^3 , indicando pouca alteração nesta variável nas éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E, e que estão dentro dos limites normais, de 2300 a 8500/ mm^3 , descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Os resultados do leucograma indicam que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nos valores médios de monócitos nas éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E, entretanto observou-se monocitose.

Estes resultados concordam com RUDOLPH *et al.*, (1975), que observaram monocitose após casos agudos de infecção por *Babesia equi*. A fagocitose dos parasitos por monócitos e neutrófilos é um fenômeno biológico comum, portanto há aumento esperado de células fagocitárias, em doenças causadas por protozoários.

4.7. Avaliação dos Parâmetros Hematológicos nos Potros

Na Tabela 11, podem ser observados os valores médios hematológicos da hematimetria, hematócrito, hemoglobina, proteína plasmática e fibrinogênio dos potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.

Tabela 11. Médias e equações de regressão (ER) da hematologia em função das semanas de idade dos potros das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP).

Variáveis	Tempo (semanas)						ER	CV %	Valores normais*
	1	3	5	7	9	11			
Hematologia									
HEM($10^6/\mu\text{l}$)	9,3	8,1	7,2	7,0	6,2	6,1	1	17,2	5,5 a 9,5
HT (%)	39,7	36,3	31,5	30,4	27,3	27,6	2	12,7	24 a 44
HB (g/dl)	11,9	11,7	9,5	9,1	8,2	8,9	3	13,8	8 a 12
PT (g/dl)	4,5	6,8	6,6	6,5	6,8	6,9	4	9,0	5,8 a 8,7
FIB (g/dl)	0,3	0,3	0,5	0,4	0,4	0,4	5	34,4	0 a 0,6

¹ $\hat{Y} = 95,3 - 6,23 X$, $r^2 = 41,8$ ($P < 0,01$); ² $\hat{Y} = 40,9 - 2,52 X$, $r^2 = 49,9$ ($P < 0,01$); ³ $\hat{Y} = 12,4 - 7,38 X$, $r^2 = 40,0$ ($P < 0,01$); ⁴ $\hat{Y} = 51,8 + 3,42 X$, $r^2 = 30,1$ ($P < 0,01$); ⁵ $\hat{Y} = 30,0 + 2,38 X$, $r^2 = 55,1$ ($P < 0,01$), onde X significa semanas.

HEM = hematimetria; HT = hematócrito; HB = hemoglobina; PT = proteína plasmática total; FIB=fibrinogênio.

* NAVARRO & PACHALY (1994)

Observou-se efeito significativo da idade dos potros, expressas em semanas, nos valores médios da hematimetria, hematócrito, hemoglobina, proteína plasmática total e fibrinogênio. Observou-se resposta linear negativa ($P < 0,01$) dos valores médios da hematimetria, hematócrito (Figura 9) e hemoglobina em função da idade dos potros, com valores variando, respectivamente, de 6,1 a $9,3 \times 10^6/\mu\text{l}$, de 27,6 a 39,7%, de 8,9 a 11,9g/dl.

A redução do hematócrito nos potros recém-nascidos pode ser justificada por ser um processo fisiológico normal. Segundo COLES (1974), o hematócrito e a concentração de hemoglobina diminuem durante as três primeiras semanas de idade dos potros, devido a presença de muitas células jovens.

Os valores médios observados estão dentro dos limites normais, para hematimetria, de 5,5 a $9,5 \times 10^6/\mu\text{l}$, para hematócrito, de 24,0 a 44,0%, para hemoglobina, de 8,0 a 12,0g/dl, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

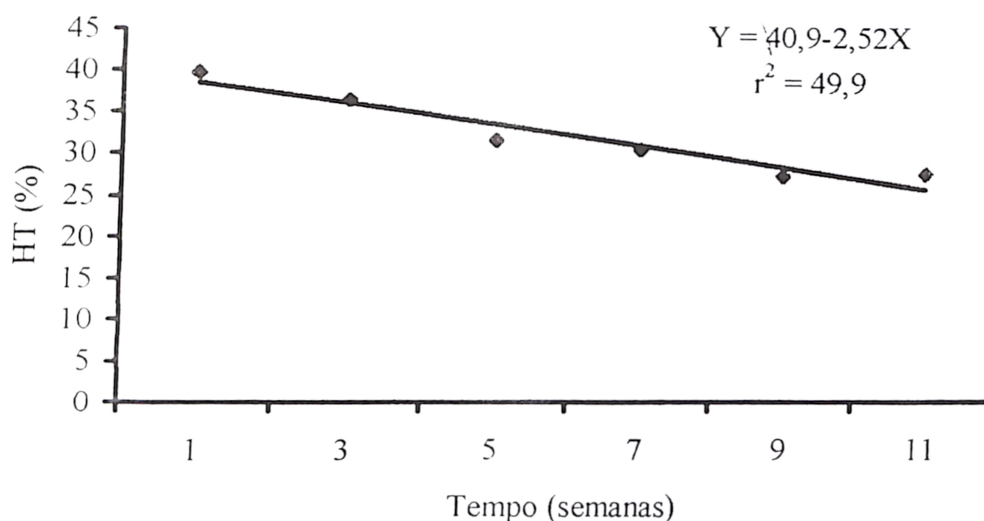


Figura 9. Estimativa dos valores médios do hematócrito em função da idade dos potros expressa em semanas.

Em relação aos valores médios das concentrações da proteína plasmática total e fibrinogênio, observou-se resposta linear positiva ($P < 0,01$) em função da idade dos potros, com valores variando, respectivamente, de 4,5 a 6,9g/dl, e de 0,3 a 0,5g/dl. Os valores de fibrinogênio apresentaram oscilações durante as primeiras semanas de idade, podendo ser um indicativo da ocorrência da babesiose ou de um processo inflamatório em andamento (RUDOLPH *et al.*, 1975).

Os valores médios da proteína plasmática total e do fibrinogênio estão dentro dos limites normais, de 5,8 a 8,7g/dl e de 0 a 0,6g/dl respectivamente, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Na Tabela 12, podem ser observados os valores médios do volume globular médio dos potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.

Tabela 12. Valores médios do volume globular médio (VGM) em potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.

Variáveis	Tratamentos			Média	CV (%)	Valores normais*
	Controle MM	Vit E MM	Vit E BP			
Hematologia						
VGM (mm ³)	45,9a	45,6a	44,4a	45,3	16,8	37 a 58,5

Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

* NAVARRO & PACHALY (1994)

Não foram observados efeitos significativos da suplementação de vitamina E nas dietas das éguas e da idade dos potros, no volume globular médio cujo valor médio foi de $45,3/\text{mm}^3$, dentro dos limites normais para eqüinos, do tipo linfático, de $37,0$ a $58,5/\text{mm}^3$, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Observou-se interação significativa da suplementação dietética com vitamina E das éguas com a idade dos potros para os valores médios da concentração da hemoglobina globular média nos potros das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier que podem ser observados na Tabela 13.

Tabela 13. Valores médios da concentração de hemoglobina globular média (CHGM) em função da interação da suplementação de vitamina E nas dietas das éguas com a idade dos potros das raças Mangalarga Marchador (MM) e Bretão Postier (BP).

Tratamento	Tempo (semanas)						Médias	CV %	Valores normais*
	1	3	5	7	9	11			
	CHGM (%)								
Controle	33,8ab	32,2a	32,5a	30,6ab	25,4a	34,5a	31,5		
VitE -MM	27,0b	31,7ab	31,6ab	23,8bb	29,5ab	31,3ab	29,1	12,7	31 a 38,5
VitE -BP	30,1ab	34,0ab	29,9ab	35,2a	31,2ab	33,9ab	32,4		

Médias seguidas de letras iguais na coluna, em cada semana, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

* NAVARRO & PACHALY (1994)

A análise de regressão dos valores médios da concentração de hemoglobina globular média em função da idade dos potros não foi significativa. Independente da suplementação de vitamina E nas dietas das éguas, os valores médios variam de 29,1 a 32,4%, dentro dos limites normais para eqüinos, do tipo linfático, de 31,0 a 38,5%, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

A diminuição dos parâmetros hematológicos, com o decorrer das semanas, sugere um processo fisiológico. Entretanto, RIBEIRO *et al.* (1995), relatam decréscimo do VGM em potros de área endêmica, não observado neste experimento.

Em relação as variáveis do leucograma dos potros, podem ser observados na Tabela 14, os valores médios dos leucócitos, linfócitos, eosinófilos e basófilos dos potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.

Os valores médios dos leucócitos e linfócitos foram maiores nos potros das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E, de 11314,5 e 11472,5/ μl ; e de 3479,0 e 2683,9/ mm^3 , respectivamente, sugerindo uma resposta leucocitária mais intensa para os potros filhos de éguas suplementadas com vitamina E. Independente da suplementação de vitamina E nas dietas das éguas, os valores médios variam de 9410,4 a 11472,5/ μl e de 2058,4 a 3479,0/ mm^3 , respectivamente, dentro dos limites normais para eqüinos, do tipo linfático, de 6000 a 12000/ μl e de 1500 a 7700/ mm^3 , descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Tabela 14. Valores médios de leucócitos, linfócitos, eosinófilos e basófilos em potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.

Variáveis	Tratamentos			CV (%)	Valores normais*
	Controle MM	Vit E MM	Vit E BP		
Leucometria					
LEU/ μ l	9410,4 b	11314,5 a	11472,5 a	31,6	6000a12000
LIN (mm ³)	2058,4 b	3479,0 a	2683,9 ab	36,2	1500 a 7700
EOS (mm ³)	125,1 a	40,4 a	98,6 a	152,6	0 a 1000
BAS (mm ³)	79,1 a	0 b	62,4 ab	263,6	Raros

LEU = leucócitos; LIN = linfócitos; EOS = eosinófilos; BAS = basófilos

Médias seguidas de letras iguais na linha, para cada variável, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

* NAVARRO & PACHALY (1994)

Os valores médios dos eosinófilos não foram significativos ($p > 0,05$) para tratamentos e a idade dos potros, com um valor médio de $152,6/\text{mm}^3$, valor que está dentro dos limites normais, de zero a $1000/\text{mm}^3$, descritos por NAVARRO & PACHALY (1994).

Na Tabela 15, podem ser observados os valores médios dos leucócitos, linfócitos, neutrófilos e monócitos em função da idade dos potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.

Tabela 15. Médias e equações de regressão (ER) da leucometria em função da idade dos potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E.

Variáveis	Tempo (semanas)						ER	CV %	Valores normais*
	1	3	5	7	9	11			
Leucograma									
LEU/ μ l	6153,3	7058,3	14804,2	13083,3	10820,8	12475,0	1	31,6	6000 a 12000
LIN (mm ³)	1509,1	1916,5	2855,4	3104,0	3175,1	3882,7	2	36,2	1500 a 7700
NEU (mm ³)	3538,6	3840,7	9994,4	7974,6	6284,5	7237,8	3	36,7	2300 a 8500
MON(mm ³)	912,8	1078,7	1710,2	1866,3	1222,2	1305,5	4	55,1	0 a 1000

¹ $\hat{Y} = 66,1 + 1,17 X$, $r^2 = 18,6$ ($P < 0,01$); ² $\hat{Y} = 11,5 + 4,54x$, $r^2 = 30,1$ ($p < 0,01$); ³ $\hat{Y} = 40,9 + 6,80 X$, $r^2 = 11,7$ ($P < 0,01$); ⁴ $\hat{Y} = 10,9 + 7,28 X$, $r^2 = 11,4$ ($P < 0,01$), onde X significa semanas.

LEU = leucócitos; LIN = linfócitos; NEU = neutrófilos; MON = monócitos

* NAVARRO & PACHALY (1994)

Observou-se efeito significativo da idade dos potros, expressas em semanas, nos valores médios dos leucócitos, linfócitos, neutrófilos e monócitos. Observou-se resposta linear positiva ($P<0,01$), com valores variando, respectivamente, de 6153,3 a 12475,0/ μ l, de 1509,1 a 3882,7/ mm^3 , de 3538,6 a 7237,8/ mm^3 , de 912,8 a 1305,5/ mm^3 .

Os resultados do leucograma sugerem um aumento de células de defesa e fagocitária, com aumento dos valores médios dos leucócitos e linfócitos dos potros nascidos das éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier cujas dietas foram suplementadas com vitamina E. Os valores médios dos monócitos estão acima dos valores normais sugerindo uma monocitose no decorrer do aumento da idade dos potros. Segundo RUDOLPH *et al.* (1975), após uma infecção aguda por *Babesia equi*, ocorre um aumento dos níveis de fibrinogênio plasmático e monocitose acompanhando a parasitemia.

4.8. Ocorrência clínica da *Babesia equi* em égua da raça Bretão Postier

As éguas do experimento foram acompanhadas diariamente, sendo que apenas uma égua da raça Bretão Postier apresentou prostração, febre e mucosas pálidas anteriormente à semana do parto. As observações hematológicas e sorológicas estão descritas na Tabela 16.

Esta égua apresentou o maior índice de ELISA, dentre as éguas de ambas as raças, ocorrendo redução do hematócrito e da hemoglobina e, monocitose, quando iniciaram-se os sinais clínicos característicos da babesiose com esfregaços sanguíneos positivos para *Babesia equi*. Posteriormente, o título de anticorpos decresceu com estabilização dos índices de ELISA entre 4 e 5. Os esfregaços sanguíneos realizados nas semanas 9 a 12 apresentaram Cruz de Malta, sugerindo a multiplicação do protozoário.

Tabela 16. Avaliação do hematócrito (HT), hemoglobina (HB), monócitos (MON), índice de ELISA (IE) e esfregaço sanguíneo de uma égua Bretão Postier.

Semanas	HT (%)	HB (g/dl)	MON (mm^3)	Índice de ELISA	Esfregaço
1	27	9,0	2172	6	Negativo
2	27	9,0	2184	6	Negativo
3	27	9,0	769	6	Negativo
4	26	8,6	2743	5	Negativo
5	26	7,0	2100	5	Positivo
6	27	8,7	597	5	Negativo
7	28	8,3	1281	6	Negativo
8	26	8,9	2863	5	Positivo
9	27	9,0	3349	4	Positivo
10	30	8,6	1762	5	Positivo
11*	28	9,6	1824	5	Positivo
12	26	8,6	3486	4	Positivo

* Semana da ocorrência do parto.

Estes resultados são concordantes com as observações de RUDOLPH *et al.* (1975), que relatam leucograma com monocitose nos casos agudos de infecção por *Babesia equi*; e com os de DE WAAL & POTGIETER (1987), quando afirmaram que a redução do hematócrito é um sensível indicador do início de alterações patológicas induzidas pelo hemoparasito e, que a ocorrência de parasitemia por *Babesia equi* está relacionada com aumento do título de anticorpos e redução do hematócrito.

5. CONCLUSÕES

A suplementação dietética de vitamina E na dose de 80 mg para cada 100 Kg de peso vivo não foi suficiente para modular a resposta imune nas éguas, entretanto houve predominância de leucocitose e linfocitose, sem diminuição do VGM, nos potros nascidos de éguas das raças Mangalarga Marchador e Bretão Postier alimentadas com dietas suplementadas com vitamina E.

As alterações hematológicas observadas nas éguas, não foram significativas nos casos crônicos de babesiose, exceto nas reinfecções, contudo houve predominância de leucocitose com monocitose e basofilia nas éguas e potros.

Não houve resposta imunomoduladora no IgG do colostro das éguas.

Nas infecções crônicas por *Babesia equi* há redução dos valores do hematócrito das éguas e, aumento nos títulos de anticorpos para *Babesia equi* nas éguas e potros, sendo mais evidente nos potros.

O teste de ELISA indireto mostrou-se importante para a avaliação da resposta individual das éguas e potros nos casos crônicos de *Babesia equi* e, uma técnica sensível e eficiente na avaliação de elevado número de amostras.

A técnica do esfregaço sanguíneo foi pouco eficiente para diagnóstico de babesiose, nos casos crônicos.

Há necessidade de mais estudos sobre a utilização e quantificação da vitamina E como imunomodulador em eqüinos portadores de babesiose.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFZAL, M.; TENGGERGY, R.P.; ELLIS, R.P. KIMBERLING, C.V.; MORRIS, C.J. Protection of rams against epididymitis by a *Brucella ovis* vitamin E adjuvant vaccine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 7, p. 293-304, 1984.
- ALLISON, R.D.; LAVEN, R.A. Vitamin E for milk production in dairy cows: a review. *Nutrition Abstracts and Reviews, Series B: Livestock Feeds and Feeding*, v.71, n.2, p. 43-52, 2001.
- ANDRADE, C.M. *Meios e soluções comumente empregados em laboratórios*. Ed. Universidade Rural, 353p., 2000.
- AYRES, M.; AYRES, M. Jr.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. BioEstat 2.0: *Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. Ed. Manuel Ayres et al., Sociedade Cível Mamirauá/CNPq, 272p, 2000.
- AZIZ, E.; KLESIUS, P.H. Effect of selenium deficiency on caprine polymorphonuclear leukocyte production of leukotriene B4 and its neutrophil chemotactic activity. *American Journal of Veterinary Research* v.47, n.2, p. 426-428, 1986.
- BABÈS, V. Sur l'hémoglobinurie bactérienne du boeuf. *Comptes Rendus Hebdomadaires de Seances de l'Academic de Sciences*, Paris, v.107, p. 692-693, 1888.
- BASHIRUDDIN, J.B.; CAMMÀ, C.; REBÊLO, E. Molecular detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horse blood by PCR amplification of part of the 16S rRNA gene. *Veterinary Parasitology*, v.84, p. 75-83, 1999.
- BITTENCOURT, V.R.E.P.; MASSARD, C.L.; MASSARD, C.A. Aspectos epidemiológicos da babesiose equina na Microrregião Fluminense do Grande-Rio-Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.4, n.1, p. 13-17, 1997.
- BÖSE, R.; DAEMEN, K. Demonstration of humoral immune response of horses to *Babesia caballi* by Western Blotting. *International Journal of Parasitology*, v.22, n.5, p.627-630, 1992.
- BÖSE, R.; JORGENSEN, W.K.; DALGLIESH, R.J.; FRIEDHOFF, K.T.; DE VOS, A.J. Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. *Veterinary Parasitology*, v.57, p.61-74, 1995.
- BÖSE, R.; PEYMAN, B. Diagnosis of *Babesia caballi* infections in horses by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Western Blot. *International Journal of Parasitology*, v.2, p.341-346, 1994.
- BOTTEON, P.T.L. **Aspectos clínicos e epidemiológicos da babesiose: desenvolvimento de um ELISA indireto para diagnóstico de *Babesia equi* (Laveran, 1901)**. Seropédica: UFRRJ, 2003. 57p. (Tese, Doutorado em Ciências Veterinárias).
- BRÜNING, A. Equine Piroplasmosis an update on diagnosis, treatment, and prevention. *British Veterinary Journal*, v.152, p.139-151, 1996.

- CARINI, A. Sobre uma piroplasmose eqüina observada em São Paulo. *Archivos da Sociedade Médica e Cirurgia*, v.1, p. 63-66, 1910.
- CHEW, B.P. Antioxidant vitamins affect food animal immunity and health. *Journal of Nutrition* 180:4S-1807S, 1995.
- COLES, E.H. *Veterinary Clinical Pathology*. Second edition, W.B. Saunders Company, 615p., 1974.
- COSTA PEREIRA, M.A.V. **Prevalência de *Babesia equi* (Laveran, 1901) e *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1912) em eqüinos da raça PSI**. Seropédica: UFRRJ, 1999. (Tese, Doutorado em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária).
- COSTA, R.P.; MELLO, R.P. Nota prévia sobre a ocorrência de *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) em *Equus caballus* no Brasil. *Veterinária*, v.16, p. 74-75, 1963.
- CRANDELL, K. Vitamin requirements in the Horse. In: *Advances in Equine Nutrition II*. p. 305-315. Ed. Pagan, I., Kentucky, USA. CD-ROOM, 2000.
- CURNOW, J.A. The use of a slide agglutination test to demonstrate antigenic differences between *Babesia bigemina* parasites. *Australian Veterinary Journal*, v. 49, p.290-293, 1973.
- CUNHA, C. W.; SILVA, S. S.; PIMENTEL, C. A.; DAPPER, E. Avaliação da frequência de eqüinos soropositivos a *Babesia equi* no Jôquei Clube de Pelotas e em dois haras da zona sul do Rio Grande do Sul, RS. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 5, p. 119-122, 1996.
- CUNHA, C.W.; SILVA, S.S.; OSÓRIO, B.L.; DUTRA, C.L Alterações hematológicas em eqüinos experimentalmente infectados com *Babesia equi*. *Ciência Rural*, v. 28, n. 2, p. 283-286, 1998.
- DANIELS, J.T.; HATFIELD, P.G.; BURGESS, D.E.; KOTT, R.W.; BOWMAN, J.G.P. Evaluation of ewe and lamb immune response when ewes were supplemented with vitamin E. *Journal of Animal Science*, v.78, p.2731-2736, 2000.
- DE WAAL, D.T. Equine Piroplasmosis: a review. *British Veterinary Journal*, v.148, p. 6-13, 1992.
- DE WAAL, D.T. The transovarial transmission of *Babesia caballi* by *Hyalomma truncatum*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v.57, p. 99-100, 1990.
- DE WAAL, D.T.; POTGIETER, F.T. The transestadial transmission of *Babesia caballi* by *Rhipicephalus evertsi evertsi*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v.54, p. 655-656, 1987.
- DONNELLY, J.; PHIPPS, L.P.; WATKINS, K.L. E. Evidence of maternal antibodies to *Babesia equi* and *Babesia caballi* in foals of seropositive mares. *Equine Veterinary Journal*, v. 14, p. 126-128, 1982.
- ERBSLÖH, J.K.E. Babesiosis in the newborn foal. *Journal of Reproduction Fertility*, v. 23, p.725-726, 1975.
- FONSECA, A.; BRAGA, A. Noções sobre Tristeza Parasitária dos Bovinos. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 213 p., 1924.

- FORTES, E. *Parasitologia Veterinária*. 3a Edição, Editora Ícone, 689 p. 1997.
- FRAPE, D. *Equine Nutrition and Feeding*. Second edition, Blackwell Science Ltd, 564 p., 1998.
- FRIEDHOFF, K.T. Die Piroplasmen der Equiden-Bedeutung für den Internationalen Pferdeverkehr. *Berlin München Tierärztliche Wochenschr.*, v. 95, p. 368-375, 1982.
- GENTRY, P.C.; ROSS, T.T.; OETTING, B.C.; BIRCH, K.D. Effects of supplemental d-alpha tocopherol on pre-weaning lamb performance, serum and colostrum tocopherol levels and IgG titers. *Sheep and Goat Journal Research*, v.8, p.95-100, 1992.
- HAILAT, N.Q.; LAFI, S.Q.; AL-DARRAJI, A.M.; AL-ANI, F.K. Equine babesiosis associated with strenuous exercise: clinical and pathology studies in Jordan. *Veterinary Parasitology*, v. 69, n. 1-2, p. 1-8, 1997.
- HEUCHERT, C. M.; GIULLI JR, V.; ATHAIDE, D. F.; BÖSE, R.; FRIEDHOFF, K. T. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brasil. *Veterinary Parasitology*, v. 85, n.1, p. 1-11, 1999.
- HOFFMAN, R.M., MORGAN, K.L., LYNCH, M.P. Dietary vitamin and supplemented in the periparturient period influences immunoglobulins in equine colostrum and passive transfer in foals. In: Equine Nutrition and Physiology Symposium, 16th. 1999, Raleigh, North Carolina. *Proceedings ... ENPS*: Raleigh, p.127-128, 1999.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 1990. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: novembro/ 2001.
- JEFFCOTT, L.B. Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. *Biology Review*, v.47, p.439-464, 1972.
- KERBER, C.E. “Babesiose ou Piroplasmose dos Equinos”. Disponível em: <kerberlab@xpnnet.com.br>. Acesso em: junho/ 2001.
- KERBER, C.E.; FERREIRA, F.; PEREIRA, M.C. Control of equine piroplasmosis in Brazil. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v.66, p.123-127, 1999.
- KNOWLES, D.P. Jr. Equine Babesiosis (Piroplasmosis). A problem in the international movement of horses. *British Veterinary Journal*, v. 152, n. 2, p. 123-125, 1996a.
- KNOWLES, D.P. Jr. Control of *Babesia equi* parasitemia. *Parasitology Today*, v.12, p.195-198, 1996b.
- KOTT, R.W.; THOMAS, V.M.; HATFIELD, P.G.; EVANS, T.; KATHLEEN, C.D. Effects of dietary vitamin E supplementation during late pregnancy on lamb mortality and ewe productivity. *American Journal of Veterinary Medical Association*, v.212, n.7, p.997-1000, 1998.
- LABRUNA, M. B.; KERBER, C. E.; FERREIRA, F.; FACCINI, J. L. H.; WAAL, D. T.; GENNARI, S. M. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*. v. 97, p. 1-14, 2001.
- LAVERAN, A. Contribution a l'étude de *Piroplasma equi*. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, v.8, 380 p., 1901.

LE BLANC, M.M.; MC LAURIN, B.I.; BOSWELL, R. Relationships among serum immunoglobulin concentration in foals, colostral specific gravity, and colostral immunoglobulin concentration. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.189, n.1, p. 57-60, 1986.

LEVINE, N.D. Taxonomy of Piroplasms. Transactions of the American Microscopical Society, *Lawrence*, v.90, p.2-33, 1971.

LEWIS, L.D. *Equine Clinical Nutrition: Feeding and Care*, Williams & Wilkins, p. 39-45, 1995.

LINHARES, G. F. C. **Aspectos biológicos e epidemiológicos das babesioses de eqüinos, com ênfase à microrregião de Goiânia, Goiás, Brasil.** Seropédica: UFRRJ, 1994. 149p. (Tese, Doutorado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária).

MACHADO NETO, R. Formação e transferência da imunidade passiva. In: A produção animal na visão dos brasileiros. Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38, 2001, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: SBZ, p. 644-657, 2001.

MACHADO, R.Z. **Estudo de imunidade celular e humoral na babesiose bovina.** Jaboticabal: UNESP, 1991. 150p. (Tese, Ciências Agrárias e Veterinárias, título de Livre-docente).

MAHONEY, D.F. Bovine babesiosis: An assessment of the significance of complement fixing antibody based upon experimental infection. *Australian Veterinary Journal*, v.40, p.369-375, 1967.

MAHONEY, D.F.; WRIGHT, I.G.; FRERICHS, W.M. Identification of *Babesia equi* in Austrália. *Australian Veterinary Journal*, v. 37, p. 44-47, 1977.

McDOWELL, L.R. *Vitamins in Animal and Human Nutrition*. Ed. Academic Press, Inc., p. 157-216, 1989.

McGÜIRE, T.C.; VAN HOOSIER, G.L.; HENSON, J.B. The complement-fixation reaction in equine infectious anemia: demonstration of inhibition by IgG(T). *The Journal of Immunology*, v.107, n.6, p. 1738-1744, 1971.

MEO-SCOTONI, C.M.; MACHADO NETO, R. Transferência de imunidade passiva em eqüinos: características imunológicas do processo de formação do colostro. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, v.21, p.200-204, 1992.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Nutrients Requirements of Horses*. Washington, D. C., 5th Ed., 1989. 100 p.

NAVARRO, C.E.K.; PACHALY, J.R. *Manual de Hematologia Veterinária*. Ed. Varela, 169p., 1994.

NEITZ, W.O. Classification, transmission and biology of piroplasms of domestic animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 64, n. 2, p. 56-111, 1956.

NUTTALL, G.H.F.; STRICKLAND, C. On the occurrence of two species of parasites in equine piroplasmiasis of biliary fever. *Parasitology*, v.12, p. 65-69, 1910.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES - OIE, "Manual of standards for diagnostic tests and vaccines". Equine Piroplasmosis, Chapter 3.4.6." Disponível em: <<http://www.oie.int/>>. Acesso em: maio/ 2001.

PASSOS, L.M.F.; RIBEIRO, M.F.B.; ABDEREGG, R.I.; BÖSE, R. Serological diagnosis of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in pregnant mares. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n. 6, p. 527-530, 1999.

PFEIFER BARBOSA, I.; BÖSE, R.; PEYMANN, B. FRIEDHOFF, K.T. Epidemiological aspects of equine babesiosis in a herd of horses in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.2, n. 58, p. 1-8, 1995.

PFEIFER BARBOSA, I.; FRIEDHOFF, K.T.; MASSARD, C.L.; LINHARES, G.F.C. Diagnosis of natural infection with *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910) in horses and *Anocentor nitens* (Newmann, 1897) in Itaguaí, Rio de Janeiro, Brasil. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v.15, p. 105-107, 1992.

PORTZ, C.; LARANJEIRA, P.V.E.H.; BOTTEON, P.T.L.; SANTOS, T.M.; GIACOMOLLI, E.A.; ALMEIDA, F.Q. Influência dos locais de coleta de sangue e do exercício no diagnóstico da babesiose equina. Congresso Brasileiro de Parasitologia, 12, Rio de Janeiro. Anais... CBPA:Rio de Janeiro. CD-ROM, 2002.

REDDY, P.G.; MORRIL, J.L.; MINOCHA, H.C.; MORRIL, M.B.; DAYTON, A.D.; FREY, R.A. Effect of supplemental vitamin E on the immune system of calves. *Journal of Dairy Science*, v.69, p.164-171, 1986.

REDDY, P.G.; MORRIL, J.L.; MINOCHA, H.C.; STEVENSON, J.S. Vitamin E is immunoestimulatory in calves. *Journal of Dairy Science*, v.70, p.993-999, 1987.

REFFET, J.K.; SPEARS, J.W.; BROWN, T.T. Effect of dietary selenium and vitamin E on the primary and secondary immune response in lambs challenged with parainfluenza₃ virus. *Journal of Animal Science*, v.66, p.1520-1528, 1988.

RIBEIRO, M.F.B.; LIMA, J.D. Diagnóstico sorológico da babesiose equina por *Babesia equi* em Minas Gerais. Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Bajé. Anais... Rio Grande do Sul, 1989.

RIBEIRO, M.F.B.; COSTA, J.O.; GUIMARÃES, A.M. Epidemiological aspects of *Babesia equi* in horses in Minas Gerais, Brasil. *Veterinary Research Communications*, v. 23, n. 6, p. 385-390, 1999.

RIBEIRO, M.F.B.; SAITO, J. F.; PIMENTEL, P. V. Babesiose equina I -Primo Infecção de potros em áreas endêmicas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 47, n. 5, p. 641-647, 1995.

ROUSE, B.T.; INGRAM, D.G. The total protein and immunoglobulin profile of equine colostrum and milk. *Immunology*, v. 19, p. 901-907, 1970.

RUDOLPH, W.; CORREA, J.; ZURITA, L.; MANLEY, W. Equine piroplasmosis: leukocit response to *Babesia equi* (Laveran, 1910) infection in Chile. *British Veterinary Journal*, v. 131, p. 601-609, 1975.

SCHEIN, E. Equine babesiosis. In: RISTIC, M. *Babesiosis of domestic animals and man*. CRC. Boca Raton, Flórida, p. 197-208, 1988.

- SHKAP, V.; COHEN, I.; LEIBOVITZ, B.; PIPANO, S.E.; AVNI, G.; SHOFR, S.; GIGER, U.; KAPPMAYER, L.; KNOWLES, D. Seroprevalence of *Babesia equi* among horses in Israel using competitive inhibition ELISA and IFA assays. *Veterinary Parasitology*, v. 76, p. 251-259, 1998.
- SMITH, T.; KILBOURNE, F.L. Investigation into the nature, causation and prevention of Texas or Southern Cattle Fever. *Bureau of Animal Industry Bulletin*, United States Department of Agriculture, Washington, D.C., n.1, 1893.
- SOULÉ, C. Les babeoses équine. *Le Point Veterinaire*, v. 27, n. 168, p. 117-122, 1995.
- STARCOVICI, C. Bemerkungen über den durch Babes entdeckten Blutparasiten und die von demselben hervorgebrachten Krankheiten – die seuchenhafte Haemoglobinurie der Rinder, das Texasfieber und der Carcas der Schafe. *Zentralbibliothek Bakteriologie und Mikrobiologie*, v. 14, p. 1-18, 1893.
- STILLER, D.; COAN, M.E. Recent development in elucidating tick vector relationships for anaplasmosis and equine piroplasmiasis. *Veterinary Parasitology*, v. 57, p. 97-108, 1995.
- TENTER, A.M.; FRIEDHOFF, K.T. Serodiagnosis of experimental and natural *Babesia caballi* infections. *Veterinary Parasitology*, v. 20, p. 49-61, 1986.
- TOWNSEND, H.G.G.; TABEL, H.; BRISTOL, F.M. Induction of parturition in mares: effect on passive transfer of immunity to foals. *Journal of American Medical Veterinary Association*, v. 182, p. 255-257, 1983.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. 2000. SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genética. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Manual do Usuário, 138 p. (versão 8.0).
- ZAUGG, J.L.; LANE, V. M. Evaluation of buparvaquone as a treatment for equine babesiosis (*Babesia equi*). *American Journal of Veterinary Research*, v. 50, n. 5, p. 782-785, 1989.

7. ANEXOS

Tabela 17. Nome do animal, tratamento, peso vivo, quantidades consumidas de ração concentrada, de volumoso e de Vitamina E.

Nome	Trat	Peso Kg	Dieta MS (Kg/dia)				Vitamina E(mg/dia)			
			Conc.	Vol.	Total	Supl.	Conc.	Vol.	Total	Vit E (mg/KgMS)
Rebeca	1	462	2,15	5,4	7,5	0	34,5	529,0	563,5	78,3
Prece	1	422	1,96	4,9	6,9	0	31,4	483,9	515,3	74,9
Antena	1	486	2,26	5,7	7,9	0	36,6	485,5	522,1	66,1
Estrutura	1	415	1,90	4,8	6,7	0	30,4	470,4	500,8	74,8
Feiticeira	2	398	1,90	4,6	6,5	318	30,4	450,8	799,2	122,9
Sabrina	2	433	2,10	5,1	7,2	346	33,6	499,8	879,4	125,6
Azaléia	2	431	1,90	5,1	7,0	344	30,4	499,8	874,2	124,9
Quinzena	2	402	1,90	4,7	6,6	321	30,4	460,6	681,2	123,0
Fagulha	3	496	2,30	5,8	8,1	397	36,8	568,4	1002,2	123,7
Farta	3	666	3,10	7,8	10,9	540	49,6	764,4	1354,0	124,2
Viola	3	526	2,50	6,2	8,7	420	40,0	607,6	1067,6	122,7
Zumba	3	530	2,50	6,2	8,7	424	40,0	607,6	1071,6	123,2

Soluções tampão mais empregadas na técnica de ELISA.

Tampão Carbonato-Bicarbonato 0,05M pH 9,6

Carbonato de sódio (Na_2CO_3).....5,3g
 Bicarbonato de sódio (NaHCO_3).....4,2g
 Azida sódica (NaN_3).....0,85g
 H₂O destilada.....1000mL

Tampão PBS 0,01M com 0,05% de Tween 80 pH 7,4 (concentrado)

Cloreto de sódio (NaCl).....8,0g
 Fosfato dissódico (Na_2HPO_4).....12,36g
 Fosfato monossódico (NaH_2PO_4).....3,13g
 Tween 80.....0,5mL
 H₂O destilada.....1000mL

Solução de uso:

100µl do tampão + 1000mL de H₂O destilada

Tabela 18. Análise de variância da hematimetria das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,1198990E+15			
Total de redução	23	0,5447122E+14	0,2368314E+13	1,74	0,0534
Tratamento	2	0,1257786E+13	0,6288931E+12	0,15	*****
Erro (A)	6	0,2528438E+14	0,4214063E+13		
Semanas	5	0,1311953E+14	0,2623906E+13	1,92	0,1075
Sem x Trat	10	0,1480953E+14	0,1480953E+13	1,09	0,3911
Resíduo	48	0,6542777E+14	0,1363079E+13		
CV (%)	18,5				

Tabela 19. Análise de variância do hematócrito das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	328,4444			
Total de redução	23	212,0556	9,219807	3,80	0,0000
Tratamento	2	94,77778	47,38889	2,96	0,0614
Erro (A)	6	96,11111	16,01852		
Semanas	5	3,944444	0,7888889	0,33	*****
Sem x Trat	10	17,22222	1,722222	0,71	*****
Resíduo	48	116,3889	2,424769		
CV (%)	5,6				

Tabela 20. Análise de variância da hemoglobina das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	57,69167			
Total de redução	23	35,26529	1,533273	3,28	0,0003
Tratamento	2	3,828469	1,914235	0,51	*****
Erro (A)	6	22,73230	3,788716		
Semanas	5	2,355507	0,4711014	1,01	0,4231
Sem x Trat	10	6,349014	0,6349014	1,36	0,2280
Resíduo	48	22,42638	0,4672162		
CV (%)	8,0				

Tabela 21. Análise de variância do VGM das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	7108,374			
Total de redução	23	2989,969	129,9986	1,52	0,1118
Tratamento	2	687,2055	343,6027	3,50	0,0381
Erro (A)	6	588,7766	98,12943		
Semanas	5	1152,410	230,4820	2,69	0,0321
Sem x Trat	10	561,5768	56,15768	0,65	*****
Resíduo	48	4118,405	85,80010		
CV (%)	20,2				

Tabela 22. Análise de variância do CHGM das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	659,6504			
Total de redução	23	190,3398	8,275646	0,85	*****
Tratamento	2	46,46726	23,23363	6,29	0,0037
Erro (A)	6	22,14740	3,691233		
Semanas	5	58,83480	11,76696	1,20	0,3219
Sem x Trat	10	62,89039	6,289039	0,64	*****
Resíduo	48	469,3106	9,777303		
CV (%)	10,3				

Tabela 23. Análise de variância da proteína total das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	28,00000			
Total de redução	23	15,76556	0,6854589	2,69	0,0019
Tratamento	2	0,3433333	0,1716667	0,19	*****
Erro (A)	6	5,305556	0,8842593		
Semanas	5	8,586667	1,717333	6,74	0,0001
Sem x Trat	10	1,530000	0,1530000	0,60	*****
Resíduo	48	12,23444	0,2548843		
CV (%)	6,3				

Tabela 24. Análise de variância do fibrinogênio das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	1,304444			
Total de redução	23	0,5988889	0,2603865E-01	1,77	0,0476
Tratamento	2	0,8111111E-01	0,4055556E-01	1,58	0,2174
Erro (A)	6	0,1544444	0,2574074E-01		
Semanas	5	0,1444444	0,2888889E-01	1,97	0,1009
Sem x Trat	10	0,2188889	0,2188889E-01	1,49	0,1727
Resíduo	48	0,7055556	0,1469907E-01		
CV (%)	32,6				

Tabela 25. Análise de variância da leucometria das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,7761816E+09			
Total de redução	23	0,3585390E+09	0,1558865E+08	1,79	0,0444
Tratamento	2	0,4275616E+08	0,2137808E+08	1,32	0,2762
Erro (A)	6	0,9704275E+08	0,1617379E+08		
Semanas	5	0,4071805E+08	8143609,	0,94	*****
Sem x Trat	10	0,1780221E+09	0,1780221E+08	2,05	0,0487
Resíduo	48	0,4176426E+09	8700887,0		
CV (%)	24,2				

Tabela 26. Análise de variância dos linfócitos das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,1047568E+09			
Total de redução	23	0,5527722E+08	2403358,0	2,33	0,0067
Tratamento	2	9827632,0	4913816,0	1,89	0,1626
Erro (A)	6	0,1562213E+08	2603688,0		
Semanas	5	3472053,0	694410,7	0,67	*****
Sem x Trat	10	0,2635541E+08	2635541,0	2,56	0,0146
Resíduo	48	0,4947955E+08	1030824,0		
CV (%)	30,7				

Tabela 27. Análise de variância dos neutrófilos das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,3029605E+09			
Total de redução	23	0,1508832E+09	6560141,0	2,07	0,0168
Tratamento	2	0,1890653E+08	9453263,0	1,20	0,3104
Erro (A)	6	0,4731460E+08	7885767,0		
Semanas	5	0,1246124E+08	2492247,0	0,79	*****
Sem x Trat	10	0,7220087E+08	7220087,0	2,28	0,0281
Resíduo	48	0,1520773E+09	3168277,0		
CV (%)	27,5				

Tabela 28. Análise de variância dos monócitos das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,1015415E+09			
Total de redução	23	0,3539797E+08	1539042,0	1,12	0,3631
Tratamento	2	38732,86	19366,43	0,01	*****
Erro (A)	6	0,1271591E+08	2119318,0		
Semanas	5	4825747,0	965149,4	0,70	*****
Sem x Trat	10	0,1781758E+08	1781758,0	1,29	0,2613
Resíduo	48	0,6614354E+08	1377990,0		
CV (%)	71,2				

Tabela 29. Análise de variância dos eosinófilos das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,4083672E+08			
Total de redução	23	0,1272398E+08	553216,5	0,94	*****
Tratamento	2	2434680,0	1217340,0	1,45	0,2448
Erro (A)	6	5039014,0	839835,6		
Semanas	5	1038815,0	207763,0	0,35	*****
Sem x Trat	10	4211470,0	421147,0	0,72	*****
Resíduo	48	0,2811274E+08	585682,1		
CV (%)	93,5				

Tabela 30. Análise de variância dos basófilos das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	2014457,0			
Total de redução	23	810633,2	35244,92	1,41	0,1584
Tratamento	2	160475,6	80237,79	1,52	0,2293
Erro (A)	6	316949,8	52824,96		
Semanas	5	61198,83	12239,77	0,49	*****
Sem x Trat	10	272009,1	27200,91	1,08	0,3925
Resíduo	48	1203824,0	25079,67		
CV (%)	122,5				

Tabela 31. Análise de variância da hematimetria dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,1912654E+15			
Total de redução	23	0,1141123E+15	0,4961404E+13	3,09	0,0005
Tratamento	2	0,2942608E+13	0,1471304E+13	1,13	0,3318
Erro (A)	6	0,7818636E+13	0,1303106E+13		
Semanas	5	0,8761362E+14	0,1752272E+14	10,90	0,0000
Sem x Trat	10	0,1573742E+14	0,1573742E+13	0,98	*****
Resíduo	48	0,7715311E+14	0,1607357E+13		
CV (%)	17,2				

Tabela 32. Análise de variância do hematócrito dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	2648,611			
Total de redução	23	1844,083	80,17754	4,78	0,0000
Tratamento	2	120,8611	60,43056	2,44	0,0977
Erro (A)	6	148,4722	24,74537		
Semanas	5	1457,778	291,5556	17,39	0,0000
Sem x Trat	10	116,9722	11,69722	0,70	*****
Resíduo	48	804,5278	16,76100		
CV (%)	12,7				

Tabela 33. Análise de variância da hemoglobina dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	280,4825			
Total de redução	23	191,8530	8,341435	4,52	0,0000
Tratamento	2	2,904936	1,452468	0,45	*****
Erro (A)	6	19,47930	3,246550		
Semanas	5	143,7517	28,75034	15,57	0,0000
Sem x Trat	10	25,71708	2,571708	1,39	0,2123
Resíduo	48	88,62953	1,846448		
CV (%)	13,7				

Tabela 34. Análise de variância do VGM dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	3689,362			
Total de redução	23	909,0160	39,52244	0,68	*****
Tratamento	2	28,36336	14,18168	0,40	*****
Erro (A)	6	212,2437	35,37395		
Semanas	5	167,1172	33,42344	0,58	*****
Sem x Trat	10	501,2918	50,12918	0,87	*****
Resíduo	48	2780,346	57,92387		
CV (%)	16,8				

Tabela 35. Análise de variância do CHGM dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	1551,557			
Total de redução	23	808,6823	35,16010	2,27	0,0083
Tratamento	2	135,5226	67,76129	2,62	0,0835
Erro (A)	6	155,4027	25,90045		
Semanas	5	176,0704	35,21408	2,28	0,0618
Sem x Trat	10	341,6867	34,16867	2,21	0,0333
Resíduo	48	742,8747	15,47656		
CV (%)	12,7				

Tabela 36. Análise de variância da proteína total dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	79,05875			
Total de redução	23	63,14597	2,745477	8,28	0,0000
Tratamento	2	0,6975000	0,3487500	0,43	*****
Erro (A)	6	4,814722	0,8024537		
Semanas	5	51,86958	10,37392	31,29	0,0000
Sem x Trat	10	5,764167	0,5764167	1,74	0,0991
Resíduo	48	15,91278	0,3315162		
CV (%)	9,0				

Tabela 37. Análise de variância do fibrinogênio dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	1,740000			
Total de redução	23	0,9033333	0,3927536E-01	2,25	0,0089
Tratamento	2	0,4333333E-01	0,2166667E-01	0,91	*****
Erro (A)	6	0,1433333	0,2388889E-01		
Semanas	5	0,4000000	0,8000000E-01	4,59	0,0017
Sem x Trat	10	0,3166667	0,3166667E-01	1,82	0,0829
Resíduo	48	0,8366667	0,1743056E-01		
CV (%)	34,4				

Tabela 38. Análise de variância da leucometria dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,1464884E+10			
Total de redução	23	0,9135678E+09	0,3972034E+08	3,46	0,0001
Tratamento	2	0,6322381E+08	0,3161190E+08	3,55	0,0365
Erro (A)	6	0,5345198E+08	8908633,0		
Semanas	5	0,7154072E+09	0,1430814E+09	12,46	0,0000
Sem x Trat	10	0,8148487E+08	8148487,0	0,71	*****
Resíduo	48	0,5513157E+09	0,1148574E+08		
CV (%)	31,6				

Tabela 39. Análise de variância dos linfócitos dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,1389774E+09			
Total de redução	23	0,9168669E+08	3986378,0	4,05	0,0000
Tratamento	2	0,2433320E+08	0,1216660E+08	7,72	0,0012
Erro (A)	6	9454515,0	1575752,0		
Semanas	5	0,4600930E+08	9201860,0	9,34	0,0000
Sem x Trat	10	0,1188968E+08	1188968,0	1,21	0,3107
Resíduo	48	0,4729069E+08	985222,7		
CV (%)	36,2				

Tabela 40. Análise de variância dos neutrófilos dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,7463333E+09			
Total de redução	23	0,4745248E+09	0,2063151E+08	3,64	0,0001
Tratamento	2	0,2001565E+08	0,1000782E+08	1,54	0,2258
Erro (A)	6	0,3911490E+08	6519150,0		
Semanas	5	0,3697852E+09	0,7395704E+08	13,06	0,0000
Sem x Trat	10	0,4560905E+08	4560905,0	0,81	*****
Resíduo	48	0,2718085E+09	5662677,0		
CV (%)	36,7				

Tabela 41. Análise de variância dos monócitos dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	0,4389260E+08			
Total de redução	23	0,1737206E+08	755307,0	1,37	0,1783
Tratamento	2	1583763,0	791881,4	2,90	0,0648
Erro (A)	6	1639364,0	273227,3		
Semanas	5	8152969,0	1630594,0	2,95	0,0211
Sem x Trat	10	5995965,0	599596,5	1,09	0,3920
Resíduo	48	0,2652053E+08	552511,1		
CV (%)	55,1				

Tabela 42. Análise de variância dos eosinófilos dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	1349369,0			
Total de redução	23	483119,5	21005,20	1,16	0,3206
Tratamento	2	89937,25	44968,62	1,71	0,1909
Erro (A)	6	157371,4	26228,57		
Semanas	5	29730,12	5946,025	0,33	*****
Sem x Trat	10	206080,8	20608,08	1,14	0,3524
Resíduo	48	866249,3	18046,86		
CV (%)	152,6				

Tabela 43. Análise de variância dos basófilos dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	1434222,0			
Total de redução	23	692459,3	30106,93	1,95	0,0258
Tratamento	2	83422,33	41711,17	3,96	0,0257
Erro (A)	6	63254,33	10542,39		
Semanas	5	208386,3	41677,27	2,70	0,0316
Sem x Trat	10	337396,3	33739,63	2,18	0,0353
Resíduo	48	741762,7	15453,39		
CV (%)	263,6				

Tabela 44. Análise do ELISA das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	33,11111			
Total de redução	23	17,41667	0,7572464	2,32	0,0071
Tratamento	2	2,527778	1,263889	0,59	*****
Erro (A)	6	12,80556	2,134259		
Semanas	5	1,111111	0,2222222	0,68	*****
Sem x Trat	10	0,9722222	0,9722222E-01	0,30	*****
Resíduo	48	15,69444	0,3269676		
CV (%)	35,5				

Tabela 45. Análise do ELISA dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	71	41,27778			
Total de redução	23	33,88889	1,473430	9,57	0,0000
Tratamento	2	3,111111	1,555556	1,53	0,2275
Erro (A)	6	6,111111	1,018519		
Semanas	5	22,11111	4,422222	28,73	0,0000
Sem x Trat	10	2,555556	0,255556	1,66	0,1184
Resíduo	48	7,388889	0,1539352		
CV (%)	21,7				

Tabela 46. Análise de variância da proteína colostrar

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	44	6056,966			
Total de redução	16	4812,405	300,7753	6,77	0,0000
Tratamento	2	5,078560	2,539280	0,08	*****
Erro (A)	8	268,7862	33,59828		
Tempo	2	4512,813	2256,406	50,76	0,0000
Temp x Trat	4	25,72779	6,431947	0,14	*****
Resíduo	28	1244,561	44,44860		
CV (%)	60,1				

Tabela 47. Análise de variância do IgG estimado do colostro

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Total	44	1178,428			
Total de redução	16	1000,018	62,50113	9,81	0,0000
Tratamento	2	0,7692933	0,3846467	0,07	*****
Erro (A)	8	46,31388	5,789236		
Tempo	2	951,0221	475,5110	74,63	0,0000
Temp x Trat	4	1,912773	0,4781933	0,08	*****
Resíduo	28	178,4102	6,371791		
CV (%)	70				

Tabela 48. Análise de regressão do VGM das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	1130,490	1130,490	1324	0,0005
Independente	70	5977,884	85,39835		

Tabela 49. Análise de regressão da PT das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	2	7,034571	3,517286	11,58	0,0000
Independente	69	20,96543	0,3038468		

Tabela 50. Análise de regressão do LIN das éguas

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	6701295,0	6701295,0	4,70	0,0412
Independente	22	0,3135156E+08	1425071,0		

Tabela 51. Análise de regressão da HEM dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	0,8163174E+14	0,8163174E+14	52,12	0,0000
Independente	70	0,1096337E+15	0,1566195E+13		

Tabela 52. Análise de regressão do HT dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	1342,671	1342,671	71,97	0,0000
Independente	70	1305,940	18,6528		

Tabela 53. Análise de regressão da HB dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	114,6780	114,6780	48,42	0,0000
Independente	70	165,8045	2,368636		

Tabela 54. Análise de regressão da PT dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	24,65144	24,65144	31,72	0,0000
Independente	70	54,40731	0,7772473		

Tabela 55. Análise de regressão do FIB dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	0,1190476	0,1190476	5,14	0,0265
Independente	70	1,620952	0,2315646E-01		

Tabela 56. Análise de regressão do LEU dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	0,2906367+09	0,2906367E+09	17,33	0,0001
Independente	70	0,1174247E+10	0,1677496E+08		

Tabela 57. Análise de regressão da LIN dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	0,4329662E+08	0,4329662E+08	31,68	0,0000
Independente	70	0,9568076E+08	1366868,0		

Tabela 58. Análise de regressão do NEU dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	0,9716861E+08	0,9716861E+08	10,48	0,0018
Independente	70	0,6491647E+09	9273781,0		

Tabela 59. Análise de regressão do MON dos potros

Fontes de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado médio	Teste F	Significância
Devido à regressão	1	1114860,0	1114860,0	1,82	0,1811
Independente	70	0,4277774E+08	611110,5		